ÉTUDES

SUR

LA BIÈRE.

ÉTUDES

SUR

LA BIÈRE,

SES MALADIES, CAUSES QUI LES PROVOQUENT,
PROCÉDÉ POUR LA RENDRE INALTÉRABLE,

AVEC UNE

THÉORIE NOUVELLE DE LA FERMENTATION,

PAR M. L. PASTEUR,

Membre de l'Institut de France et de la Société royale de Londres,
Membre de l'Académie de Médecine et de la Société centrale d'Agriculture de France,
des Sociétés royale et médicale d'Édimbourg, etc, etc.

« Le plus grand dérèglement de l'esprit est de croire les choses parce qu'on veut qu'elles soient. »

(Ce volume contient 12 planches gravées et 85 figures dans le texte.)

PARIS,

GAUTHIER-VILLARS, IMPRIMEUR-LIBRAIRE,
DU BUREAU DES LONGITUDES, DE L'ÉCOLE POLYTECHNIQUE,
SUCCESSEUR DE MALLET-BACHELIER,
Quai des Augustins, 55.

1876

LA MÉMOIRE DE MON PÈRE,

ANCIEN MILITAIRE SOUS LE PREMIER EMPIRE, CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Plus j'ai avancé en âge, mieux j'ai compris ton amitié et la supériorité de ta raison.

Les efforts que j'ai consacrés à ces ÉTUDES *et à celles qui les ont précédées sont le fruit de tes exemples et de tes conseils.*

Voulant honorer ces pieux souvenirs, je dédie cet Ouvrage à ta mémoire.

L. PASTEUR.

PRÉFACE.

L'idée de ces recherches m'a été inspirée par nos malheurs. Je les ai entreprises aussitôt après la guerre de 1870 et poursuivies sans relâche depuis cette époque, avec la résolution de les mener assez loin pour marquer d'un progrès durable une industrie dans laquelle l'Allemagne nous est supérieure.

J'ai la conviction d'avoir trouvé une solution rigoureuse et pratique du problème ardu que je m'étais proposé, celui d'une fabrication applicable en toute saison et en tout lieu, sans la nécessité de recourir aux moyens frigorifiques dispendieux qu'exigent les procédés actuels, et néanmoins avec l'avantage de la conservation indéfinie des produits.

Ces nouvelles études reposent sur les mêmes principes qui ont servi de guide à mes recherches sur le vin, le vinaigre et la maladie des vers à soie, principes dont la fécondité et les applications sont, à mon avis, sans limites. L'étiologie des maladies contagieuses est peut-être à la veille d'en recevoir une lumière inattendue.

Qu'adviendra-t-il, dans la grande industrie, de la mise en œuvre du procédé de fabrication de la bière que j'ai

déduit de mes observations et de l'utilité des faits nouveaux sur lesquels il est fondé? Je n'aurai pas la témérité de préjuger l'avenir sur ces questions. Le temps est le meilleur appréciateur des travaux scientifiques, et je n'ignore pas qu'une découverte industrielle porte rarement tous ses fruits entre les mains du premier inventeur.

J'ai commencé mes recherches à Clermont-Ferrand, dans le laboratoire et avec l'aide de mon ami, M. Duclaux, professeur de Chimie à la Faculté des Sciences de cette ville. Je les ai continuées à Paris, et en dernier lieu dans la grande brasserie, la première de France, sans contredit, des frères Tourtel, à Tantonville. Je me fais un devoir de remercier ici publiquement ces intelligents industriels de leur extrême obligeance. Je dois également un hommage public à M. Kuhn, habile brasseur, de Chamalières, près de Clermont-Ferrand, ainsi qu'à M. Velten, de Marseille, et à MM. de Tassigny, de Reims, qui ont mis leurs usines et leurs produits à ma disposition avec le plus louable empressement.

L. PASTEUR.

Paris, le 1er juin 1876.

ÉTUDES

SUR

LA BIÈRE.

CHAPITRE PREMIER.

DE L'ÉTROITE DÉPENDANCE QUI EXISTE ENTRE LA FACILITÉ D'ALTÉRATION DE LA BIÈRE OU DU MOUT QUI LA PRODUIT ET LES PROCÉDÉS DE SA FABRICATION.

Jetons d'abord un rapide coup d'œil sur la nature de la bière et sur ses modes de fabrication.

Connue dès la plus haute antiquité, la bière est une infusion de farine d'orge germée et de houblon, qu'on a fait fermenter après l'avoir refroidie, et que le repos et les soutirages ont amenée ultérieurement à une limpidité presque parfaite. C'est une boisson alcoolique d'origine végétale, du *vin d'orge*, comme on l'a appelée quelquefois non sans raison (1). Pourtant le vin et la bière diffèrent assez notablement dans leur composition : moins acide et moins alcoolique que le vin, la bière est plus chargée de matières en dissolution, et ces matières, pour la plupart, ne sont pas d'une nature identique à celles qu'on trouve dans le vin.

Ces différences dans la composition du vin et de la bière amènent de grandes inégalités dans la conservation de ces deux

(1) Cette expression se trouve pour la première fois, paraît-il, dans Théophraste, qui naquit 371 ans avant Jésus-Christ.

liquides. Le peu d'acidité de la bière, sa faiblesse alcoolique, la présence d'une matière sucrée ou pouvant le devenir contribuent à lui donner une altérabilité que le vin ne possède pas, en général, au même degré.

Ce qui prouve que c'est bien aux différences que je signale dans la composition de ces boissons qu'on doit attribuer leur inégale résistance à contracter des maladies, c'est qu'on pourrait rendre le vin beaucoup plus altérable qu'il ne l'est en réalité, si l'on diminuait tout à la fois son acidité et la proportion habituelle d'alcool qu'il contient, ou si l'on augmentait la proportion de ses principes gommeux ou sucrés (1), toutes circonstances qui auraient pour effet de rapprocher sa nature de celle de la bière.

J'ai fait remarquer ailleurs que les soins qu'on apporte dans l'élevage du vin, que les pratiques ordinaires de la vinification, ouillage, méchage, soutirages répétés, que l'usage des caves et des vaisseaux hermétiquement clos ont pour principale origine et pour raison d'être la nécessité de combattre ou de prévenir les maladies auxquelles le vin est sujet. On peut en dire autant, et avec plus de vérité encore, de la bière, parce que celle-ci est plus altérable que le vin. La fabrication et le commerce de cette boisson se trouvent constamment aux prises avec les difficultés de sa conservation ou de celle du moût qui sert à la produire.

Nous pouvons nous en convaincre facilement en passant en revue les pratiques ordinaires de l'art du brasseur.

Lorsque l'infusion de malt et de houblon qu'on appelle *moût* de bière est achevée, on la soumet au refroidissement, pour la

---

(1) Un seul de ces changements dans la nature du vin peut devenir très-préjudiciable à sa bonne conservation : par exemple, il arrive quelquefois dans les années pluvieuses, au moment de la vendange, que les raisins se trouvent plus ou moins chargés de matières terreuses formées surtout de carbonate de chaux, lequel se dissout dans le vin et sature en partie les acides qu'il contient. Le vin devient alors fort sujet à contracter des maladies.

distribuer ensuite dans une ou plusieurs cuves ou tonneaux, où on lui fait subir la fermentation alcoolique, la plus importante de toutes les opérations de la fabrication de la bière.

Le refroidissement doit être aussi rapide que possible : c'est une condition de succès commandée par la crainte de l'altération du moût, altération qui entraînerait infailliblement la mauvaise qualité de la bière. Tant que le moût est à une température élevée, il reste sain, mais au-dessous de 70°, surtout de 25 à 35°, il est facilement envahi par les fermentations lactique et butyrique. La rapidité du refroidissement est si impérieuse qu'on a recours à des appareils spéciaux pour l'effectuer (1).

Déjà pendant la préparation du moût, et particulièrement quand on opère par trempes successives, en été, l'altération est imminente : il n'est pas rare de voir le moût s'acidifier pendant le travail des trempes, si celles-ci ne se font pas avec toute la célérité désirable.

Après que le moût a été refroidi, il est mis en levain : à cet effet on y délaye du levain recueilli dans une fermentation précédente, environ un à deux millièmes de son poids, soit 100 à 200 grammes par hectolitre de moût, le levain étant supposé fortement pressé.

Au premier abord cette mise en levain paraît indépendante des maladies possibles du moût et de la bière : il n'en est rien. En effet, pourquoi mettre en levain ? Cette pratique n'est-elle pas inconnue dans l'art de la vinification ? Le moût du raisin est toujours abandonné à la fermentation spontanée. Pourquoi ne pas agir de même avec le moût de la bière ?

Ce serait une erreur de croire que, dans la fabrication de la bière, on a recours à la mise en levain uniquement pour activer la fermentation et la rendre plus rapide ; c'est là un avantage très-contestable. La rapidité dans la fermentation n'est pas re-

(1) Nous reviendrons plus tard sur la rapidité du refroidissement du moût pour montrer qu'elle intervient également dans la clarification ultérieure de la bière.

cherchée par les brasseurs, qui s'accorderaient tous plus volontiers à dire qu'elle nuit à la qualité de la bière.

Il faut encore chercher la réponse aux questions précédentes dans la facilité d'altération du moût ou, ce qui revient au même, dans la facilité avec laquelle il peut donner lieu à des fermentations spontanées diverses. Le moût du raisin, au contraire, par son acidité, par la présence du bitartrate de potasse qui paraît favorable au développement du ferment alcoolique, par sa proportion de sucre et peut-être par quelque autre particularité de sa composition, éprouve toujours, de préférence, la fermentation alcoolique régulière (1). Les maladies du vin, au début de sa fabrication, ne se montrent qu'à l'état latent, si l'on peut ainsi dire. C'est pourquoi la vendange peut être abandonnée, sans inconvénient, à la fermentation spontanée. Avec le moût de bière, les choses se passeraient bien différemment. Dans certaines circonstances accidentelles on verrait bien apparaître la seule fermentation alcoolique, et la bière se ferait dans de bonnes conditions; mais ce serait une exception fort rare, et le plus souvent on ne recueillerait qu'un liquide acide ou putride, par suite de la production et de la multiplication des ferments de maladie. L'obligation de la mise en levain résulte donc principalement de la nécessité de faire envahir toute la masse du moût après son refroidissement, et le plus tôt possible, par une fermentation unique, la fermentation alcoolique, la seule qui fasse la bière proprement dite.

Diverses Planches de cet Ouvrage représentent les ferments alcooliques propres à la fabrication de la bière. J'appelle *ferments de maladie* tous les autres, tous ceux qui peuvent venir se mêler spontanément, c'est-à-dire sans ensemencement direct, aux ferments alcooliques proprement dits.

L'expression de *ferments de maladie* est justifiée par cette cir-

(1) Il en serait ainsi lors même que le moût de raisin ne serait pas un suc naturel, non cuit, et que, comme celui de la bière, il aurait éprouvé l'action de la chaleur.

constance, que la multiplication de ces ferments s'accompagne de la production de substances acides, putrides, visqueuses, amères, etc., qui impressionnent désagréablement notre palais quand nous buvons la bière, considération, comme on le voit, plus commerciale que scientifique. Au point de vue physiologique en effet, tous ces ferments se valent et se correspondent. Le botaniste et le savant, contemplateurs de la nature, doivent donner une égale attention aux plantes utiles ou nuisibles, parce qu'elles sont soumises aux mêmes lois naturelles, et qu'entre elles toutes on ne saurait établir une hiérarchie de mérite ; mais l'industrie et l'hygiène ont d'autres exigences.

La *Pl. I* représente les divers ferments de maladie associés à quelques cellules de levûre alcoolique, afin de montrer les grosseurs relatives de ces organismes.

Au n° 1 de la Planche correspond la bière dite *tournée :* ce sont des bâtonnets ou filaments simples ou articulés et formant chaîne, de longueurs variables, d'un diamètre voisin d'un millième de millimètre ; un fort grossissement les montre décomposés en séries de bâtonnets plus courts, à peine naissants, non encore mobiles sur leurs articulations qui ne sont qu'indiquées.

Au n° 2 correspondent le moût et la bière lactiques : ce sont de petits articles légèrement étranglés en leur milieu, isolés en général, rarement joints en chaînes de deux, trois,... articles ; leur diamètre est un peu supérieur à celui des filaments du n° 1.

Au n° 3 correspondent le moût et la bière putrides : ce sont des vibrions mobiles plus ou moins rapides suivant la température. Leur diamètre est variable, mais généralement supérieur à celui des articles des n^{os} 1 et 2 ; ils apparaissent facilement dans le moût et dans la bière au début de la fermentation, quand celle-ci traîne ; mais généralement ils sont le produit d'un travail très-défectueux.

Le n° 4 correspond au moût visqueux et à la bière dite *filante :* ce sont des chapelets de grains presque sphériques ; ce ferment est rare dans le moût, plus rare dans la bière.

Le n° 5 est propre à la bière piquée, aigre, à odeur acétique : ce sont les chapelets d'articles du *mycoderma aceti,* extrêmement

semblables d'aspect aux articles du ferment lactique n° 2, surtout quand on les examine les uns et les autres lorsqu'ils sont très-jeunes ; mais leurs fonctions physiologiques diffèrent beaucoup malgré cette ressemblance.

Le n° 7 caractérise une bière d'une acidité particulière, acidité qui rappelle un peu celle des fruits verts acides, avec odeur *sui generis;* ce sont des grains ressemblant à de petits points sphériques réunis par deux ou par quatre en carré. Ce ferment accompagne d'ordinaire les filaments du n° 1 et est plus à craindre que ce dernier qui, lorsqu'il est seul développé, n'altère pas beaucoup la qualité de la bière ; mais quand le n° 7 est présent, soit seul, soit associé au n° 1, la bière prend un goût aigre et une odeur qui la rendent détestable. C'est parce qu'il m'est arrivé de rencontrer ce ferment formé seul dans des bières, sans association avec d'autres ferments, que j'ai pu juger de ses funestes effets.

Le n° 6 représente un des dépôts propres au moût qu'il ne faut pas confondre avec les dépôts des ferments de maladie, lesquels sont toujours visiblement organisés, tandis que celui-ci est amorphe, quoiqu'il ne serait pas toujours facile de décider entre ces deux caractères si l'on n'avait sous les yeux que quelques-unes des granulations des deux sortes. C'est ce dépôt amorphe qui trouble le moût pendant son refroidissement. Il est généralement absent dans la bière, parce qu'il reste sur les bacs ou dans les appareils refroidisseurs ou qu'il se mêle à la levûre pendant la fermentation et disparaît avec elle.

Parmi les granulations amorphes du n° 6, on a figuré de petites sphères de tailles diverses d'une parfaite régularité. Ce sont de petites boules de matière résineuse et colorante qu'on trouve assez souvent dans les bières vieilles, au fond des bouteilles ou des tonneaux, quelquefois aussi dans le moût conservé depuis longtemps par la méthode d'Appert. Elles simulent des productions organisées, mais elles n'en sont pas. Déjà, dans mes *Études sur le vin,* j'ai fait observer que la matière colorante du vin peut se déposer à la longue sous cette forme.

Je n'ai pas besoin de faire remarquer que les divers fer-

ments figurés dans la *Pl. I* réclameraient une étude approfondie des fermentations auxquelles ils peuvent donner lieu, en prenant le soin d'isoler l'action de chacun d'eux dans des fermentations qu'on pourrait appeler *pures,* condition difficile, mais non impossible à réaliser, en empruntant les méthodes qui sont exposées dans cet Ouvrage.

Tous ces ferments de maladie ont des origines communes. Leurs germes, d'une petitesse infinie, difficilement reconnaissables même au microscope, font partie soit des poussières que l'air charrie, qu'il enlève ou dépose sans cesse à la surface de tous les objets de la nature, soit de celles qui souillent les matières premières utilisées pour la fabrication.

Dans les pratiques industrielles de la fermentation se manifeste également, à un haut degré, quoique à l'insu du brasseur, la domination cachée des ferments de maladie.

Depuis une trentaine d'années, l'art du brasseur a éprouvé une transformation radicale, principalement sur le continent européen. Cette transformation a consisté surtout dans un changement profond du mode de fermentation usité autrefois. On ne connaissait anciennement qu'un seul genre de bière; il en existe deux aujourd'hui : le genre des bières *à fermentation haute* et celui des bières *à fermentation basse,* qui se subdivisent chacun en plusieurs variétés auxquelles on donne divers noms, suivant le degré de force et de couleur de la bière. C'est ainsi qu'en Angleterre on trouve le porter, l'ale, le pale-ale, le stout, le bitter-beer, etc., quoiqu'il n'y existe qu'un seul genre de bière : les bières anglaises sont toutes des bières à fermentation haute.

Caractérisons en quelques mots la différence qui existe entre ces deux genres de bière.

Jadis toute la bière était à fermentation haute.

Le moût de bière, après refroidissement sur les bacs, est réuni dans une grande cuve découverte à la température de 20° C. environ et additionné de levain ; lorsque la fermentation commence à s'accuser à la surface du liquide par la formation d'une

légère mousse blanche, on distribue ce moût dans des séries de petits tonneaux de 50 à 100 litres, plus généralement de 75 litres, improprement appelés des *quarts*. Ces tonneaux sont placés dans des caves ou celliers également à la température de 18 à 20° C. L'activité de la fermentation fait bientôt sortir une écume qui devient de plus en plus épaisse et visqueuse par l'abondance de la levûre qu'elle contient. Cette levûre suit la pente naturelle des tonneaux au sortir des trous de bonde, et se rassemble dans un caniveau commun placé sous les tonneaux. C'est là qu'on recueille le levain pour les opérations ultérieures. Il est toujours en plus grande abondance que la quantité employée pour la mise en levain, car le ferment se multiplie beaucoup pendant la fermentation. L'augmentation de son poids varie avec le poids du levain et la composition du moût. Dans les conditions ordinaires du travail des brasseries, où le poids du levain est d'un millième environ du poids du moût, l'augmentation est, dit-on, de 5 à 7 fois le poids du levain. Ce dernier écart est dû surtout à la richesse plus ou moins grande du moût, à la proportion de houblon, à l'action de l'oxygène de l'air et à la proportion de levain qu'on a employée.

La durée de la fermentation est de trois à quatre jours. Alors la bière est faite, parce que sa fermentation est achevée et qu'elle est devenue limpide. Les bondes peuvent être placées sur les tonneaux et ceux-ci envoyés directement chez le débitant ou chez le consommateur (1).

Une certaine quantité de levûre, tombée au fond des tonneaux, trouble, il est vrai, la bière pendant son transport; mais quelques jours de repos suffisent pour la rendre de nouveau limpide et bonne à boire ou à être mise en bouteilles.

On voit par ce qui précède que l'expression de *fermentation haute*, appliquée au mode de fermentation dont il s'agit, peut

---

(1) Dans quelques brasseries, à Lyon notamment, la fermentation haute se pratique dans de grandes cuves, vers 15°. La levûre vient former chapeau à la surface du moût en fermentation, et on l'écume pour la déposer à côté dans des baquets plats. On ne se sert pas de *quarts*.

être motivée par ce fait, que la température de la fermentation est assez élevée, puisqu'elle débute à 19° ou 20° et qu'elle est portée à 20° ou 21° par l'acte même de la fermentation qui s'accompagne toujours d'un dégagement de chaleur (1).

Ce n'est pas toutefois la seule considération qui a fait adopter l'expression qui nous occupe. Nous venons de dire que les choses sont disposées de telle sorte que la levûre qui se produit

---

(1) La température initiale du moût doit être réglée sur la quantité de ce moût mis en fermentation. Dans les brasseries anglaises, où l'on opère sur des masses considérables, la chaleur développée pendant la fermentation élèverait la température jusqu'à compromettre la qualité de la bière, si l'on mettait en levain à 19° ou 20° C.

Voici des températures qui sont en usage au moment de la mise en levain dans les grandes brasseries de Londres :

Pour l'ale ordinaire.... .... 60° F. = 15°, 5 C.
Pour le pale-ale.............. .... 58° F. = 14°, 4 C.
Pour le porter....... .... 64° F. = 17°, 8 C.

La première fermentation s'effectue dans de grandes cuves, d'où la bière passe dans des tonneaux de capacité beaucoup moindre, où elle achève sa fermentation en rejetant sa levûre et en se clarifiant.

Pour les bières blanches de qualité supérieure, la température de fermentation ne doit pas dépasser 72° F. = 22°, 2 C.; certains brasseurs même ne dépassent pas 18°. On limite la température par un courant d'eau froide qui circule dans un serpentin établi dans les cuves ou dans les tonneaux de fermentation.

Pour le porter, dont la température débute à 64° F. ou 17°, 8 C., la température dans les cuves s'élève quelquefois jusqu'à 78° F. = 25°, 5 C.; mais c'est une température qu'on redoute d'atteindre.

Dans une cuve pour pale-ale, dont la capacité était de 200 tonneaux de 36 gallons (le gallon égale 4^{lit}, 543), j'ai vu ajouter 600^{liv} de levûre humide, en pâte épaisse. Après quarante-six heures on a jugé que l'atténuation était suffisante, et l'on a fait passer dans les tonneaux toute la masse qui avait atteint 72° F. = 22°, 2 C., au lieu de 14°, 5 C. qu'elle était au moment de la mise en levain.

Les grandes cuves où commence la fermentation peuvent être considérées comme les cuves guilloires des brasseries françaises à fermentation haute. Les tonneaux où la fermentation s'achève et où elle rejette sa levûre remplacent les *quarts*. Malgré l'énorme fabrication anglaise, et quoique la cuve guilloire, pour le porter par exemple, atteigne quelquefois la capacité de 2000^{lit} à 3000^{lit}, les tonneaux dont il s'agit ne dépassent jamais le volume de 15^{hl} à 20^{hl}, et, même à Burton, dans les célèbres brasseries Allsopp et Bass, le pale-ale s'achève dans des tonneaux d'un volume inférieur à 10^{hl}, quoique la moyenne de fabrication de ces immenses usines s'élève à 3000^{hl} et 4000^{hl} de bière par jour.

pendant la fermentation de la bière s'élève à la partie supérieure du tonneau et sort en presque totalité par le trou de bonde. Tel est principalement le fait pratique qui a décidé l'adoption des mots *fermentation haute, bière haute*, pour distinguer le genre de fermentation dont nous parlons et la qualité des bières qui en résultent.

Je le répète, toute la bière était obtenue autrefois suivant ce mode de fermentation, et aujourd'hui encore ce système est suivi dans les brasseries de la Grande-Bretagne, où le second genre de bières dites *à fermentation basse* est inconnu.

La fermentation basse consiste dans une fermentation lente à basse température, pendant laquelle la levûre se dépose au fond des cuves ou des tonneaux. Le moût de bière, après son refroidissement, est distribué dans des cuves en bois découvertes, mais le refroidissement du moût est poussé jusqu'à la température de 6 à 8° C. et maintenu à cette température par des *nageurs* en forme de cônes ou de cylindres renversés dans les cuves de fermentation, *nageurs* où l'on entretient de la glace, si la température extérieure l'exige, ce qui arrive toujours en été.

La durée de la fermentation est de dix, quinze et même vingt jours, et la levûre, qui se forme en quantité moindre que dans la fermentation haute se recueille, après le soutirage de la bière, au fond des cuves de fermentation ; elle sert aussi, pour une partie, à la mise en levain dans des opérations subséquentes.

L'usage des mots *fermentation basse* tient, d'une part, à ce que la température de la fermentation est basse, et de l'autre à ce que le ferment se recueille en bas et non en haut des vases de fermentation.

Ce genre de bière à fermentation basse, dont il existe également diverses variétés, suivant la couleur et la richesse du moût, a pris naissance en Bavière (1). Le goût des consommateurs l'a fait se développer de plus en plus, d'accord en cela avec certaines facilités commerciales que ce mode de fabrication a

(1) C'est en Alsace, ai-je ouï dire, qu'on a fait usage pour la première fois des nageurs à glace, ce qui a permis de fabriquer à fermentation basse, même en été.

introduites dans le commerce des bières. On peut dire qu'aujourd'hui la transition au nouveau mode de fabrication est achevée en Autriche, en Bavière, en Prusse, etc.

Je trouve dans le *Moniteur de la Brasserie*, numéro du 23 avril 1871, ce passage bien significatif au sujet du développement qu'a pris sur le continent, à l'étranger, la fabrication de la bière basse : « Ce sont surtout les brasseries s'occupant de la fabrication des bières de fermentation haute qui diminuent considérablement en nombre, tandis que celles où la fermentation basse est pratiquée augmentent continuellement. Il y avait en Bohême, en 1860, 281 brasseries de bières de fermentation haute, 81 en 1865, et seulement 18 en 1870. Au contraire, les brasseries de fermentation basse étaient, en 1860, au nombre de 135, en 1865 de 459, et en 1870 de 831. Quant aux brasseries où se fabriquent les deux espèces de bière, il y en avait 620 en 1860, 486 en 1865 et 119 en 1870. Le nombre des brasseries actuellement en activité en Bohême est de 968. »

En France, nous sommes encore dans une période de transition ; mais chaque année voit s'augmenter la fabrication des bières basses au préjudice de celles à fermentation haute.

Je ne m'étendrai pas sur certaines différences qui existent entre les deux genres de bières et qui dérivent du mode de préparation et de composition des moûts. Le brassage des bières à fermentation haute se fait en une seule fois, soit à bras, soit mécaniquement, tandis que l'autre est fait par trempes successives à des températures graduellement croissantes. Ces différences, et celles qui résultent d'une cuisson plus prolongée pour le moût à fermentation haute, donnent lieu à des différences de composition et de couleur dans les moûts ; aussi les bières à fermentation basse portent quelquefois le nom de *bières blanches*, par opposition aux autres, plus foncées en couleur, qu'on appelle *bières brunes*.

Enfin les bières à fermentation basse portent aussi quelquefois, en France, les noms de *bières allemandes* ou encore de *bières de Strasbourg*.

Il est facile de se rendre compte des changements profonds

qui résultent du mode nouveau de fabrication à fermentation basse dans l'installation et le travail habituel des brasseries.

Non-seulement la bière basse est faite, mais elle est de plus conservée à basse température; de là, la nécessité de l'emploi de caves-glacières où la température doit être maintenue à 5° ou 6° R. et même à 1°, 2° ou 3° R. pendant toute l'année, ce qui oblige à des amoncellements énormes de glace et à des emplacements d'une étendue considérable pour loger les foudres à bière.

La bière basse est, en effet, une bière dite *de garde*, qu'on fabrique surtout en hiver, afin de profiter de la température basse de cette saison, et que l'on garde dans des caves froides jusqu'au printemps et à l'été, où la bière est consommée en plus grande quantité. On n'estime pas à moins de 100^{kg} la quantité de glace qu'exige un hectolitre de bonne bière depuis le moment du refroidissement du moût jusqu'à l'époque de sa mise en vente (1).

Dans la fabrication à fermentation haute, on ne rencontre aucune de ces exigences, de ces complications dans le travail, de cette dépense d'installation, etc., etc. Le travail de fabrication de la bière, y compris sa livraison, ne prend pas plus de huit jours.

D'où peuvent provenir, par conséquent, l'abandon graduel, et déjà réalisé dans une grande partie de l'Europe, d'un mode de fabrication si simple, si rapide et relativement si peu coûteux, et son remplacement par un autre à tant d'égards désavantageux pour le fabricant? Ce serait se tromper que d'en chercher la cause unique dans la meilleure qualité de la bière à fermentation basse. Cet avantage existe sans doute, de l'avis du plus grand nombre des consommateurs, mais il ne saurait expliquer à lui seul une transformation aussi radicale dans la fabrication,

---

(1) Le seul établissement de M. Dreher, de Vienne (Autriche), consomme chaque année 45 millions de kilogrammes de glace. La brasserie de Sedlmayer, à Munich, près de 10 millions de kilogrammes. (*Journal des Brasseurs*, numéro du 22 juin 1873.)

témoin l'Angleterre, qui ne possède pas encore, je crois, une seule brasserie à fermentation basse et qu'on peut supposer, dès lors, plus favorable à l'usage des bières à fermentation haute.

Le principal avantage du travail à basse température consiste en ce que la bière basse est moins altérable, moins sujette à contracter des maladies que la bière haute, surtout pendant son séjour dans la brasserie, circonstance qui place le brasseur dans des conditions industrielles bien supérieures à ce qu'elles étaient autrefois. Par l'emploi de la glace, le brasseur peut fabriquer en hiver ou au commencement du printemps pour livrer en été à la consommation (1). La fabrication à haute température, au contraire, donne des bières qui doivent être consommées promptement. Le brasseur est donc tenu de la fabriquer au fur et à mesure de la demande de la consommation, laquelle est variable avec l'état de l'atmosphère. Ce sont là des conditions très-défectueuses, commercialement parlant. L'industrie a besoin de plus de stabilité et d'uniformité, soit dans la production, soit dans l'écoulement de ses marchandises. La bière basse pouvant être fabriquée en grande quantité à une époque pour être livrée dans une autre, suivant les besoins, permet d'obvier à ces inconvénients. Mais comment donc, de l'emploi de la glace et d'un levain agissant à une température basse, a-t-on pu tirer ces avantages et cette meilleure conservation? Par cette raison que tous les ferments de maladie dont nous avons parlé apparaissent difficilement au-dessous de 10° et qu'à cette température leurs germes commencent à deve-

(1) Il faut bien comprendre, toutefois, que ce que je dis ici de la faculté relative de conservation des deux genres de bières n'est vrai qu'à cause des modes respectifs de fabrication de ces bières, de l'emploi du froid pendant la fermentation basse et du séjour de la bière basse dans les caves-glacières. En réalité et à prendre les choses d'une manière absolue, la bière basse est plus altérable que la bière haute; si elle l'est moins que cette dernière dans la pratique commerciale, c'est grâce à l'emploi du froid dans les brasseries à fermentation basse. Une brasserie d'une production annuelle de 10 000^{hl} consomme en moyenne 8000 quintaux métriques de glace. Il faut encore ajouter la glace qu'exige le débit de la bière basse, qu'il est à propos de boire vers 12° C.; on arrive ainsi au chiffre indiqué précédemment de 100^{kg} par hectolitre.

nir inertes. C'est à ce simple fait de Physiologie végétale qu'il faut attribuer principalement l'usage du froid dans les brasseries. Une seule fois j'ai rencontré les vibrions n° 3, *Pl. I*, apparaissant très-péniblement dans du moût en fermentation à 5° C.

Ici encore, par conséquent, nous voyons la fabrication de la bière et les changements qui s'y sont introduits dans le siècle actuel se trouver sous la dépendance immédiate du fait des maladies possibles de cette boisson, soit pendant, soit après sa préparation.

Si la fabrication anglaise n'a pas adopté encore le genre des bières à fermentation basse, il faut l'attribuer, en grande partie, à l'impossibilité d'accroître, dans des villes comme Londres, l'étendue actuelle des brasseries autant que le demanderait le nouveau mode de fabrication. Alors même que le goût des consommateurs réclamerait des bières à fermentation basse, les brasseurs anglais hésiteront longtemps à transformer leurs brasseries; cela entraînerait pour eux des dépenses, des difficultés considérables, pour ne pas dire des impossibilités d'installation. Si jamais ces changements s'opèrent, ce sera sans doute ailleurs que dans la ville même de Londres qu'ils prendront naissance. Toutefois, il faut remarquer que les brasseries anglaises, sans adopter la fermentation basse, ont introduit dans le travail de la bière des améliorations importantes, notamment dans la conduite de la température de fermentation, qui doit être maintenue dans des limites étroites et rigoureuses, sous peine d'altérer la qualité du produit. Il ne serait pas difficile de prouver que c'est encore l'aptitude de la bière à contracter des maladies qui a motivé ces améliorations, à l'insu des brasseurs qui les ont réalisées.

Je dois faire observer dès à présent que, en dehors des levûres propres aux deux fermentations haute et basse, il existe plusieurs autres levûres alcooliques distinctes qui fournissent chacune un genre de bière spécial. Parmi ces sortes de bières, il en est de défectueuses par le goût, par l'arome, par la limpidité. Dès lors, supposons que, dans la fabrication d'une bière

par une levûre déterminée et qui fournit un goût très-apprécié, vienne se mêler à la levûre principale une levûre étrangère donnant des produits de fermentation qui laissent à désirer : la fabrication s'en ressentira et l'on pourra croire à l'existence d'une maladie. Le microscope consulté ne décèlera cependant pas d'organisme spécial, aucun de ceux que nous avons figurés par exemple. C'est alors dans l'étude des levûres que nous devrons chercher la cause des résultats observés. Ce point, qui a une grande importance dans la fabrication, deviendra plus clair par la suite.

Si je voulais passer en revue actuellement les conditions du commerce de la bière, de son débit dans les lieux de consommation, de son exportation, je retrouverais encore nombre de pratiques qui sont sous la dépendance de l'altérabilité de cette boisson. J'en citerai quelques-unes.

Hors des caves-glacières, on est tenu de loger la bière dans des tonneaux de très-petite capacité, afin que ceux-ci soient plus promptement consommés, car la bière ne supporte pas une vidange prolongée : elle se couvre des fleurs du *mycoderma vini* ou du *mycoderma aceti*.

Veut-on mettre la bière en bouteilles, il faut que la provision en soit telle qu'elle s'épuise en un mois ou six semaines au plus.

Jusque dans la mise en bouteilles on retrouve l'influence de l'altérabilité de ce liquide (1). Il faut que les bouteilles soient

(1) Pour garantir la bière en bouteilles de l'altération, il est des maisons qui ajoutent, au moment du remplissage de chaque bouteille, une petite quantité de bisulfite de chaux. D'autres chauffent les bouteilles à 55°. Dans le nord de l'Allemagne et en Bavière, cette dernière pratique est fort employée depuis la publication de mes *Études sur le vin* et de quelques écrits de M. Velten. On a même donné à ce procédé le nom de *pasteurisation*, par hommage pour la découverte que j'avais faite des causes des altérations des boissons fermentées et des moyens de les prévenir sûrement par un chauffage préalable. Malheureusement ce procédé réussit moins bien pour la bière que pour le vin, en ce sens que la finesse du goût de la bière s'en trouve altérée, surtout quand on la fabrique par les moyens actuellement en usage. Cet effet serait moins sensible pour la bière faite d'après le procédé que j'expose dans cet Ouvrage.

couchées d'abord pendant vingt-quatre ou quarante-huit heures après la mise en bouteilles, puis replacées debout. C'est que l'air qui reste entre le bouchon et le niveau du liquide pourrait donner lieu à une production de fleurs. Si les bouteilles sont couchées, l'oxygène de cet air est absorbé par certains principes oxydables du liquide, et il n'y a plus alors à craindre les fleurs quand on relève les bouteilles. Celles-ci, d'ailleurs, ne pourraient rester impunément couchées plus longtemps, parce que la fermentation complémentaire pourrait faire sauter les bouchons. Enfin, si les bouteilles sont debout, le dépôt du ferment se fait au fond et non sur les parois latérales.

Veut-on transporter au loin les bières de garde, il faut les faire voyager dans des wagons entourés de glace. Sans cette précaution, elles fermentent outre mesure ou contractent des maladies.

Les bières à fermentation haute ne peuvent voyager. On ne se résout à l'exportation de ce genre de bière que si l'on a accru beaucoup la proportion de houblon, dont l'huile essentielle agit à quelques égards comme antiseptique et retarde l'apparition des maladies de la bière (1). L'expédition des bières anglaises dans les Indes ou sur le continent a diminué ou mieux n'a pas suivi la progression qu'on avait espérée. Ce commerce a entraîné de grandes pertes. On cite une brasserie d'Angleterre qui a perdu dans une seule cargaison 1 200 000fr, parce que, à l'arrivée aux Indes, toute la bière expédiée s'est trouvée tournée.

Les pays chauds, où la bière aurait un si facile débit, car on sait combien cette boisson est agréable par les grandes chaleurs, pour peu que sa température soit de quelques degrés audessous de la température ambiante, n'ont pas de brasseries;

---

(1) Je citerai une preuve convaincante de l'influence du houblon sur les organismes de fermentation. Le moût non houblonné s'altère après qu'il a été porté à une température de 60° et 70° C. Il s'y développe facilement une fermentation butyrique. Le moût houblonné devient inaltérable quand il a été chauffé à ces températures.

du moins leur installation entraîne des frais énormes par la dépense exagérée de la glace. C'est que, dans les pays chauds, la bière s'altère avec une extrême facilité. On a dit que la bière est la boisson des pays du Nord qui, privés de la vigne parce que leur climat est impropre à sa culture, ont cherché dans les grains qui y abondent un moyen de suppléer à l'absence du vin. Cela est vrai dans une certaine mesure; mais il n'est pas douteux également que la bière paraît avoir pris naissance en Égypte, pays très-chaud, d'où elle s'est répandue ensuite dans toute l'Europe. On l'appelait *vin de Péluze,* du nom de la ville de Péluze, sur les bords du Nil, qui produisait une bière très-estimée (1).

Certainement les pays chauds, et ceux même qui cultivent la vigne, consommeraient beaucoup de bière si cette boisson pouvait supporter les fortes chaleurs (2).

On fabrique actuellement la bière en grande quantité dans les Indes anglaises, à la condition d'une dépense considérable de glace.

En résumé, les dangers qui peuvent résulter de l'altérabilité du moût de bière et de la bière règlent pour ainsi dire toutes les circonstances de la fabrication et du commerce de cette boisson, et sont la source de tous les changements et améliorations pratiques qui ont été réalisés par l'art du brasseur depuis le commencement de ce siècle.

---

(1) Pour ces détails historiques voir l'*Encyclopédie,* article BIÈRE.

(2) La France est privilégiée sous le rapport de la production des vins et pourtant la consommation de la bière y augmente chaque année. En 1873, la quantité de bière soumise à l'impôt s'est élevée à 7413190^{hl}, ayant procuré au Trésor un revenu de 20165136^{fr}. Ces nombres sont extraits d'un Rapport publié en 1875 par M. Jacquème, inspecteur des finances, qui fait remarquer, en outre, que les 7413190^{hl} ne s'appliquent qu'à la bière ayant acquitté l'impôt. Il faudrait y joindre la bière fabriquée en fraude, non déclarée, que M. Jacquème évalue, peut-être il est vrai avec exagération, aux deux tiers de la fabrication totale.

CHAPITRE II.

RECHERCHE DES CAUSES DES MALADIES DE LA BIÈRE ET DE CELLES DU MOUT QUI SERT A LA PRODUIRE.

Les observations qui précèdent démontrent, je crois, suffisamment que la fabrication de la bière, l'installation des brasseries et plus généralement toutes les pratiques de l'art du brasseur se trouvent sous la dépendance immédiate de ce fait, que la bière et le moût qui sert à la produire sont des liquides *essentiellement altérables*. Il y aurait donc une importance extrême à bien connaître les causes et la *nature des altérations* dont il s'agit; car elles nous conduiraient probablement à envisager d'une manière nouvelle les conditions de cette industrie et peut-être à en modifier utilement les pratiques. Pourtant c'est en vain qu'on cherche les connaissances auxquelles je fais allusion dans les nombreux ouvrages qui ont été composés sur l'art du brasseur. On y trouve, tout au plus, quelques indications vagues sur l'existence des maladies que la bière peut contracter dans le cours de sa fabrication ou ultérieurement, et quelques recettes empiriques pour en dissimuler les mauvais effets.

Je vais essayer d'établir avec rigueur ce que je n'ai fait qu'affirmer gratuitement au paragraphe précédent, savoir que *toutes* les altérations auxquelles le moût de bière et la bière proprement dite sont sujets ont pour cause exclusive le développement de ferments organisés, dont les germes sont apportés par les poussières que l'air charrie sans cesse ou qui sont répandues à la surface des matériaux et ustensiles divers servant au travail, bacs refroidisseurs, cuves, pelles, tonneaux, vêtements des ouvriers, eaux, levain, malt, etc., etc.

On voit que cette proposition est toute semblable à celle que j'ai soutenue touchant les maladies des vins (1).

Par l'expression de *maladies* du moût et de la bière j'entends ces altérations profondes qui dénaturent ces liquides jusqu'à les rendre très-désagréables au goût, surtout quand elles ont quelque durée, et qui font dire, par exemple, de la bière qu'elle est *aigre, sûre, tournée, filante, putride,* etc. Il ne serait pas logique d'appeler *maladies* des modifications dans la qualité des bières, comme en peuvent produire des pratiques plus ou moins intelligentes, dépendant de l'inhabileté du brasseur, de la composition du moût, de la nature spécifique du levain ou de la mauvaise qualité des matières premières. Il est bien avéré, par exemple, que la bière dite à *fermentation basse* n'a toute sa finesse de goût, quand on suit les procédés actuellement en usage, que si elle a été faite à des températures inférieures à 10° C. Préparée à 10° ou 12° C., ou plus encore, elle n'a pas la délicatesse que recherchent les consommateurs, et il pourrait se faire néanmoins qu'elle fût aussi saine qu'une bonne bière qui aurait fermenté à 6° ou 8° C. On pourra dire de cette bière qu'elle est inférieure à telle autre bière jugée meilleure; mais on aurait tort de l'appeler *malade,* puisque je suppose le cas où elle ne le serait pas réellement.

§ I. — Toute altération maladive dans la qualité de la bière coïncide avec le développement d'organismes microscopiques étrangers a la nature de la levure de bière proprement dite.

On peut démontrer de plusieurs manières la proposition que j'ai avancée sur les causes des maladies du moût et de la bière. Voici une des plus simples :

Prenez quelques bouteilles d'excellente bière, par exemple de

(1) J'ai publié un premier aperçu de cette proposition, en ce qui concerne la bière, dans mes *Études sur le vin,* en 1866.

celle que l'on consomme à Paris sous les dénominations de bières *Tourtel, Grüber, Dreher*, etc., du nom des brasseurs qui les produisent. Placez-les dans un bain-marie et portez la température vers 60° C. Après le refroidissement, déposez les bouteilles à côté de celles qui n'ont pas été chauffées. Dans tous les cas, surtout si vous opérez pendant la saison chaude, vous trouverez, après un intervalle de quelques semaines, un peu plus ou un peu moins suivant la température et la nature des bières, que toutes les bouteilles qui n'auront pas été chauffées seront devenues malades, quelquefois jusqu'à n'être plus buvables. Étudiez alors les dépôts des bouteilles, chauffées et non chauffées, par comparaison. Vous constaterez facilement que la levûre alcoolique proprement dite se trouve associée à des organismes étrangers, en général filiformes, très-ténus, simples ou articulés, comme le représente la *Pl. II* ci-jointe, dont le dessin a été pris d'après nature sur le dépôt de bouteilles non chauffées, mises en comparaison avec un égal nombre de bouteilles de la même bière chauffées le 8 octobre 1871. L'examen eut lieu le 27 juillet 1872. La bière chauffée à 55° C. était très-saine, franche de goût et toujours en fermentation. J'ai constaté, en effet, par des expériences précises, que la levûre alcoolique chauffée dans le milieu bière supporte la température de 55° C. sans perdre sa faculté germinative, qui n'est que rendue plus difficile et plus lente, tandis que les ferments de maladie périssent dans ce même milieu à cette température, comme cela arrive pour le vin. La bière non chauffée était au contraire altérée au point de n'être plus buvable. Son acidité en acides volatils était plus forte que celle de l'autre bière dans le rapport de 5 à 1. La bière chauffée renfermait $\frac{1}{2}$ pour 100 d'alcool de plus que l'autre.

Le dépôt des bouteilles chauffées montrait également les filaments de maladie, mais en quantité si minime qu'il fallait souvent parcourir plusieurs champs du microscope avant d'en rencontrer un seul. Ceux dont on a retrouvé ainsi la présence après le chauffage existaient dans la bière avant cette opération qui les a fait périr, sans modifier toutefois d'une manière

sensible leur forme ou leur grandeur. Tués par la chaleur, ils n'ont pu se multiplier ni continuer d'agir sur les principes composants de la bière (1).

En modifiant ces expériences, il n'est pas difficile de reconnaître, d'une part, que les bières d'apparence saine au goût ne contiennent de ces ferments filiformes ou autres qu'en nombre à peine appréciable, et, d'autre part, que ces mêmes ferments apparaissent avec les premiers changements défavorables dans la qualité des bières; enfin leur abondance plus ou moins grande varie généralement avec l'intensité de la maladie.

Dans des cas extrêmement rares, il peut arriver, du moins je l'ai entendu affirmer sans l'avoir constaté moi-même, que la bière se conserve intacte en bouteilles même sans avoir été préalablement chauffée. Cette exception ne peut avoir lieu que pour certaines bières d'une composition particulière, fortement houblonnées, faites dans la saison favorable de novembre ou décembre, avec des matières premières choisies et qui ont fermenté avec des levains accidentellement purs. Dans le dépôt de telles bières, même après un intervalle de plusieurs mois ou de plusieurs années, on ne trouverait que le ferment alcoolique ordinaire, dont l'action lente ne fait qu'augmenter peu à peu la quantité d'alcool de la bière et diminuer la proportion de dextrine. Ces bières vieilliraient comme vieillit le vin, tout en restant saines.

Très-fréquemment et à l'insu des brasseurs, tout le travail est compromis par les ferments de maladie. On ne remédie au mal que quand il est assez marqué pour donner lieu à des plaintes de la part des clients. Alors le brasseur a recours à l'obligeance d'un confrère pour changer son levain, usage admis

(1) Comme le dépôt des bouteilles chauffées est très-faible, en général, il faut le recueillir avec quelque précaution. Les bouteilles sont relevées. Après quelques jours de repos, on les décante très-doucement en les agitant le moins possible et, quand il ne reste plus au fond de la bouteille que 1 ou 2 centimètres cubes de liquide, on secoue fortement de façon à rassembler tout le dépôt du fond et des parois dans ce peu de liquide, et c'est une goutte de celui-ci qu'on étudie au microscope.

et respecté dans les mœurs de la brasserie, parce que tous les chefs d'usine ont intérêt à le maintenir : le brasseur dont le travail est le plus satisfaisant sait très-bien qu'il est peut-être à la veille, lui aussi, de la nécessité de changer de levain.

J'ai eu maintes fois l'occasion de constater que cette nécessité de changer de levain tenait le plus ordinairement à une altération provoquée par la présence des ferments de maladie, dont la multiplication fortuite avait été la conséquence de quelques négligences le plus souvent inconscientes dans les opérations ou l'effet d'influences climatériques. Quand on songe que la levûre est un être vivant, et que le milieu qui lui sert d'aliment ou l'eau dans laquelle elle séjourne est extrêmement propre au développement d'un grand nombre d'autres êtres microscopiques, la pureté relative de la levûre, bien plus que son altération, a lieu de surprendre.

En ayant recours aux observations microscopiques, on pourrait souvent reconnaître l'existence du mal longtemps avant d'en être averti par un travail défectueux, qui entraîne toujours à de grandes pertes (1).

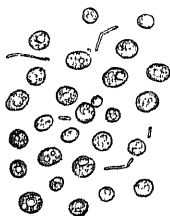
A l'appui de ce qui précède, je citerai les faits suivants :

Au mois de septembre 1871, je fus admis à visiter une grande brasserie de Londres. L'étude des levûres au microscope y était complétement inconnue. Je demandai à la faire en présence des directeurs de l'usine. Mon premier examen porta sur la levûre du *porter*, recueillie dans le canal déversoir des levûres des tonneaux où s'achève la fermentation. Dans le dessin ci-joint de cette levûre (*fig.* 1), pris sur place, un des ferments de maladie abonde comme on le voit. Le travail du *porter* dans la brasserie devait donc laisser beaucoup à désirer et depuis longtemps peut-être. On m'avoua en effet que, le jour même, on avait fait chercher un nouveau levain dans une autre brasserie de

(1) Depuis la publication de mes *Études* sur les maladies des vins et sur les dangers que font courir au vin et à la bière les parasites microscopiques qu'on y rencontre, quelques brasseurs éclairés ont déjà tiré grand profit de l'application de ces études.

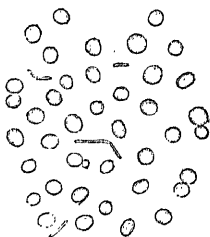
Londres. Je m'empressai de l'examiner au microscope : il était, sans aucune comparaison, plus pur que le précédent.

N'est-il pas certain que, si l'usage du microscope avait été familier aux brasseurs dont je parle, ils auraient pu être avertis du mauvais état de leur fabrication avant le moment où ils

Fig. 1.

le constatèrent, peut-être par des plaintes de leur clientèle ou par telle ou telle autre circonstance fâcheuse qui les avait obligés de changer de levain?

Je demandai ensuite à observer les levûres des autres bières en fermentation, notamment les levûres des bières blanches, telles que l'ale et le pale-ale.

Voici le dessin que j'en fis d'après nature (*fig.* 2). On y reconnaît encore l'existence des filaments de la bière tournée.

Fig. 2.

Il était intéressant d'étudier la bière blanche qui avait précédé celle qui était en fabrication et dont je venais d'examiner la levûre.

On m'en présenta de deux sortes, toutes deux en tonneaux,

l'une déjà collée, l'autre non collée. Cette dernière était sensiblement trouble, et je reconnus, séance tenante, dans l'examen d'une goutte, trois ou quatre filaments par champ du microscope. Celle qui était collée était presque claire, mais sans brillant; elle contenait environ un filament par champ. J'affirmai alors, en présence du maître-brasseur qu'on avait fait quérir, que ces bières s'altéreraient très-facilement, qu'il était indispensable de les livrer promptement à la consommation, qu'enfin elles devaient être déjà défectueuses au goût, ce dont tout le monde convint, quoique après une assez longue hésitation. J'attribuai celle-ci uniquement à la réserve naturelle à tout fabricant, que l'on oblige à déclarer que sa marchandise n'est pas irréprochable.

On fit venir un peu de la colle employée dans la brasserie : elle était remplie des mêmes filaments de maladie.

J'adressai alors à ces messieurs quelques questions au sujet des pertes qui peuvent résulter des altérations de la bière dans le commerce de la brasserie. J'avais entendu dire à plusieurs brasseurs que le prix de vente de la bière n'était si différent de son prix de revient qu'à cause des pertes qu'entraîne toujours l'avarie inévitable de grandes quantités de bière; plusieurs même l'ont évaluée en ma présence à 20 pour 100 en moyenne de la production totale.

Les premières réponses des brasseurs anglais dont je parle furent peu précises; pourtant, comme ils comprirent sans doute, d'après ce qui venait de se passer, que les confidences faites à un savant n'étaient pas toujours sans utilité pratique pour le fabricant, ils finirent par m'avouer qu'ils avaient en réserve dans leur brasserie une grande quantité de bière qui s'était gâtée en tonneaux quinze jours au plus après sa confection. Le premier pas ayant été fait dans cet aveu, on se montra fort désireux de savoir ce qui avait pu altérer à ce point la bière, car elle était tout à fait imbuvable. Je l'examinai au microscope sans pouvoir y reconnaître tout d'abord les ferments de maladie; mais prévoyant qu'elle avait dû s'éclaircir par un repos très-prolongé, et que ces ferments devenus inertes avaient

dû se rassembler au fond des immenses réservoirs qui la contenaient, j'examinai le dépôt amassé au fond de ces réservoirs. Il était uniquement formé de filaments de maladie, sans même offrir le moindre mélange avec des globules de levûre alcoolique. La fermentation complémentaire de cette bière avait donc été uniquement une fermentation de maladie.

La ressemblance entre ces filaments et ceux, en bien plus petit nombre, qui accompagnaient les globules de levûre alcoolique dans les observations précédentes, l'altération de la bière poussée jusqu'aux dernières limites quand ces filaments étaient très-abondants, l'altération, beaucoup moindre, de celle qui n'en présentait que quelques-uns par champ du microscope, donnèrent aux chefs présents de la brasserie une conviction entière au sujet des causes de la mauvaise qualité de leur bière, que je venais de leur enseigner à reconnaître. Aussi, moins de huit jours après, dans une nouvelle visite que je fis à cette même brasserie, j'appris qu'on s'était empressé d'acquérir un microscope et de changer de levain pour toutes les sortes de bières remises en travail depuis ma première visite.

Il y a des époques, au renouvellement du printemps, en été et à l'automne par exemple, où le travail de la brasserie devient très-difficile. L'élévation de la température rend la conservation des levains plus délicate. Au commencement de l'automne les matières premières sont de moins bonne qualité ; les avaries qu'elles ont pu subir les ont couvertes de parasites divers. Toutes ces circonstances contribuent au développement facile des ferments de maladie.

§ II. — L'absence d'altération du moût de bière et de la bière coincide avec l'absence d'organismes étrangers.

La méthode que je viens de suivre pour démontrer qu'il existe une corrélation entre les maladies de la bière et certains organismes microscopiques ne peut guère laisser de doute, ce me semble, sur l'exactitude des principes que j'expose.

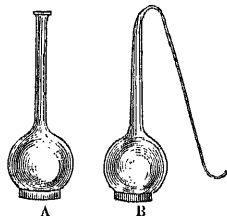
Toutes les fois que le microscope accuse dans un levain et surtout dans une levûre en activité des productions étrangères à la constitution de la levûre alcoolique proprement dite, le goût de la bière laisse à désirer, peu ou beaucoup, suivant l'abondance ou la nature de ces petits organismes. En outre, quand une bière achevée, de très-bonne qualité, perd avec le temps son goût agréable pour devenir *sûre,* on constate facilement que la levûre alcoolique du dépôt des bouteilles ou des tonneaux, primitivement pure, au moins en apparence, se trouve associée peu à peu à ces mêmes ferments filiformes ou autres. Voilà ce qu'on peut déduire des faits qui précèdent. Néanmoins quelques esprits prévenus pourraient peut-être admettre que ces ferments étrangers sont la conséquence d'un état maladif, produit par des circonstances inconnues.

Quoique cette hypothèse toute gratuite soit difficile à soutenir, je vais essayer de corroborer les observations précédentes par une méthode d'investigation qui paraîtra plus décisive : elle consiste à prouver que la bière n'offre jamais de mauvais goût toutes les fois que le ferment alcoolique proprement dit n'est pas mélangé à des ferments étrangers, qu'il en est de même du moût de la bière et que celui-ci, tout altérable qu'il soit, se conserve intact quand il est placé dans des conditions qui le défendent contre l'envahissement des parasites microscopiques, auxquels il peut si facilement servir de nourriture et de champ de développement.

L'emploi de cette seconde méthode aura en outre l'avantage de prouver avec certitude la proposition que j'ai avancée tout à l'heure, à savoir que les germes de ces organismes proviennent des poussières que l'air commun charrie et dépose sur tous les objets ou qui sont répandues sur les ustensiles, sur les matières premières utilisées dans la brasserie, matières naturellement chargées de germes microscopiques et que des altérations diverses dans les magasins, dans les germoirs, ont pu multiplier à l'infini (1).

(1) Qu'on délaye dans un peu d'eau une poignée d'orge en germination dans un

Prenons (*fig.* 3) un ballon de verre à long col A, de 250^{cc} à 300^{cc} de capacité ; plaçons-y du moût de bière houblonné ou non houblonné, étirons le col à la lampe de manière à lui donner la forme B, puis portons le liquide à l'ébullition jusqu'à ce que la vapeur sorte en sifflant par l'extrémité recourbée. Laissons

Fig. 3.

refroidir sans autre précaution ou, pour plus de sûreté, introduisons dans cette pointe ouverte un petit faisceau d'asbeste au moment même où la flamme du gaz est retirée de dessous le ballon. Avant de placer l'asbeste, on peut la passer dans la flamme et aussi après qu'elle a été introduite à l'extrémité du tube (1). Les premières portions d'air qui rentrent dans le

---

germoir de brasserie et qu'on examine au microscope une goutte du liquide trouble, on sera effrayé de l'abondance extrême des organismes étrangers microscopiques qui pullulent à la surface des grains et sur le sol humide des germoirs. Comme ils absorbent beaucoup d'oxygène, nul doute qu'ils nuisent par leur présence à la germination, outre qu'ils acidifient la masse et l'altèrent.

(1) Dans ces expériences le petit faisceau de fils d'asbeste n'est placé que par surcroît de précautions. Autrefois, dans mes premières expériences sur la question des générations dites *spontanées*, publiées de 1860 à 1862, je ne m'en servais pas, et je n'y avais pas reconnu d'inconvénients appréciables. Je l'emploie aujourd'hui. Une précaution nouvelle n'est jamais superflue dans des études de cette nature. D'ailleurs la présence de cette asbeste éloigne sûrement l'entrée des insectes. J'ai conservé longtemps un ballon portant un insecte dans sa courbure effilée. Je l'avais tué en le flambant au moment où il cheminait vers le liquide. Tout récemment M. Calmettes, jeune ingénieur de l'École Centrale, occupé à Tantonville, dans la brasserie Tourtel, d'expériences pratiques sur le procédé que je ferai connaître dans l'un des derniers Chapitres de cet Ouvrage, m'écrivit que ses ballons venaient d'être envahis tout à coup par une foule de Pucerons, pas plus gros que des Phylloxeras, et que beaucoup d'entre eux avaient déjà pénétré à l'intérieur des tubes recourbés.

ballon rencontrent des parois et un liquide très-chauds qui détruisent la vitalité des germes des poussières que cet air pourrait apporter. La rentrée de l'air se fait ensuite avec une grande lenteur, assez grande pour que la goutte d'eau que cette rentrée d'air pousse devant elle dans le tube recourbé arrête les poussières. Ultérieurement, ce tube est sec, mais alors la rentrée de l'air est d'une telle lenteur que les poussières tombent sur ses parois intérieures.

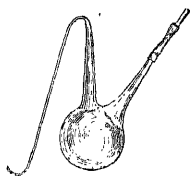
L'expérience démontre si bien que, dans de tels vases en libre communication avec l'air, les poussières extérieures ne peuvent pénétrer, qu'après dix et douze années (c'est la plus longue durée de ces essais), le liquide, s'il est de sa nature limpide, ne se trouve pas le moins du monde sali, ni à sa surface de niveau, ni dans sa masse, tandis que extérieurement les parois du vase se trouvent couvertes d'une couche épaisse de poussière : c'est la preuve la plus irrécusable de l'impossibilité de pénétration de ces poussières dans l'intérieur de ce vase.

Le moût de bière ainsi préparé reste intact indéfiniment, malgré sa facile et rapide altération, lorsqu'il est exposé à l'air, dans des conditions où il peut recevoir les poussières qui flottent dans cet air. Il en est de même de l'urine, du bouillon de ménage, du moût de raisin, et en général de ceux des liquides putrescibles ou fermentescibles qui ont la faculté de détruire la vitalité des germes microscopiques mêlés aux poussières, lorsque la température de ces liquides est portée à 100° C. environ.

La disposition du ballon (*fig.* 3) est suffisante quand il s'agit de la démonstration des faits que je viens de rappeler et qu'on trouvera décrits avec plus de détails dans mon Mémoire des *Annales de Chimie et de Physique*, publié en 1862, ayant pour titre : *Mémoire sur les corpuscules organisés en suspension dans l'atmosphère. Examen de la doctrine des générations spontanées*. La forme (*fig.* 4), qui ne diffère de la précédente que par l'existence d'une deuxième tubulure soudée au ballon, offre de grands avantages pour diverses études. Nous l'adopterons de préférence dans la suite de cet Ouvrage. Elle permet la culture facile dans des liquides appropriés de tel ou

tel organisme microscopique déterminé, sans que, si les précautions sont bien prises, on ait à craindre des mélanges fortuits de cet organisme avec d'autres, dont la présence accidentelle ne manquerait pas de jeter le trouble dans les résultats des observations.

Appliquons cette disposition à la culture de la levûre, mais en supposant expressément que cette petite plante est privée de tout mélange avec des spores étrangères, résultat que nous apprendrons à réaliser par diverses méthodes expérimentales dans un Chapitre ultérieur.

Fig. 4.

Dans le ballon (*fig.* 4) introduisons du moût de bière; puis, après avoir adapté un tube de caoutchouc à la nouvelle tubulure, faisons bouillir le liquide; la vapeur, trouvant une issue plus facile par le tube de caoutchouc que par le tube effilé, sortira d'abord par le tube de caoutchouc et détruira ainsi les germes sur les parois de cette tubulure. Fermons le tube de caoutchouc par un bouchon de verre; aussitôt la vapeur sortira par le tube sinueux. Laissons refroidir. Le ballon est alors disposé pour être ensemencé. Si l'on craignait que quelque spore étrangère de nature inconnue pénétrât pendant le refroidissement ou n'eût pas été tuée par la vapeur d'eau qui est toujours un peu surchauffée, à cause de la résistance qu'elle éprouve dans sa sortie, on n'aurait qu'à disposer les ballons ainsi préparés dans une étuve et les y laisser pendant plusieurs jours ou plusieurs semaines, afin de voir si leurs liquides y éprouvent quelque altération. On n'utiliserait que ceux dont le liquide se serait conservé.

Je préviens le lecteur que cette cause d'erreur ne se produit

pas peut-être une fois sur mille, surtout si l'on se sert du tampon d'amiante, qui empêche l'introduction des petits insectes attirés par l'odeur des liquides et qui ont l'instinct de pénétrer par l'extrémité du tube et de le parcourir intérieurement. En venant chercher si loin et si péniblement leur nourriture, ils se condamnent à une mort certaine, puisqu'ils se noient forcément, car il leur faudrait une intelligence qui leur fait défaut pour ressortir du ballon; mais le liquide s'altère infailliblement à cause des poussières qu'ils ont apportées.

Après avoir passé rapidement la flamme d'une lampe à alcool sur le tube de caoutchouc, sur le bouchon de verre, sur le tube recourbé, voire même sur les doigts de l'opérateur, on sort le bouchon de verre, et l'on introduit la levûre pure à l'aide d'un tube de verre préalablement chauffé. Cette levûre est conservée elle-même dans un vase à l'abri des poussières en suspension dans l'air. Si peu que le tube de verre prenne de globules de levûre il en apporte toujours cent et mille fois plus qu'il n'est nécessaire à l'ensemencement du liquide. Aussitôt le bouchon de verre, de nouveau passé rapidement dans la flamme, est remis en place. Pendant que le tube de verre transporte la levûre du vase qui la contient dans le ballon, elle est soumise à une cause d'impureté, puisqu'on ne peut éviter le contact de l'air commun ; si cette cause d'erreur apportait une perturbation fréquente dans les expériences, on pourrait l'éloigner ou la restreindre par quelque disposition nouvelle, mais c'est inutile. Je n'en ai jamais été gêné, parce qu'il n'y a pas, à beaucoup près, continuité dans l'atmosphère de la cause des générations dites *spontanées*, comme on le croyait à tort avant la publication de mon Mémoire de 1862 ci-dessus mentionné.

Voici les résultats des expériences conduites comme je viens de l'indiquer.

La levûre semée, en si petite quantité que ce soit, se rajeunit, bourgeonne, se multiplie. Bientôt, c'est-à-dire après vingt-quatre, quarante-huit heures ou davantage, selon la température et surtout la vitalité plus ou moins grande des globules, on voit les parois du ballon se couvrir d'un dépôt blanc de levûre et une

mousse fine apparaître à la surface du liquide, d'abord par petits îlots formés de groupes de bulles si petites qu'elles seraient imperceptibles si elles n'étaient réunies. Les îlots grandissent, se rejoignent peu à peu et finissent par former une mousse abondante. Au bout de deux ou trois jours la mousse tombe, la fermentation devient plus lente, puis elle cesse complétement : la bière est achevée. Or cette bière peut se conserver indéfiniment dans le ballon sans jamais s'altérer. Comme l'air extérieur entre et sort librement par les variations de pression et de température, la bière s'évente à la longue, elle vieillit, *se vine,* mais jamais elle ne prend de goût de maladie, c'est-à-dire qu'elle ne devient ni sûre, ni aigre, ni amère, ni putride.... Elle ne se couvre même pas de *mycoderma vini,* qui est le compagnon obligé de toute bière commerciale qu'on expose à l'air ordinaire.

Après quelques semaines ou quelques mois, un cercle blanc peut se montrer au niveau du liquide sur les parois du verre. C'est une couronne formée d'amas de globules jeunes d'une levûre, qui pousse là comme ferait une moisissure, en absorbant l'oxygène de l'air qui rentre dans le ballon. Le gros de la levûre, celle de la fermentation, reste au fond du liquide comme un précipité inerte. Cette inertie, toutefois, n'est qu'apparente : il y a un travail intérieur des globules, sans bourgeonnement nouveau, travail par l'effet duquel ils vieillissent de plus en plus et qui peut même les faire périr.

Les choses se passent tout autrement si la semence de levûre, au lieu d'être pure, est mêlée à un degré quelconque à des ferments de maladie. Que ceux-ci existent dans le levain, c'est-à-dire dans la semence, même en quantité si minime que le plus habile observateur aurait peine à les découvrir au microscope, ils se multiplieront dans les ballons après que la bière sera achevée, surtout si on la laisse séjourner dans une étuve. C'est même là un excellent contrôle de la pureté originelle d'un ferment employé comme semence.

En résumé, l'absence d'organismes microscopiques étrangers à la levûre de bière correspond invariablement à une bière saine

et qui reste telle indéfiniment au contact de l'air pur, quelle que soit la température ; d'autre part à la présence de ces organismes correspond toujours une bière malade, malade de telle ou telle maladie, suivant la spécificité propre de ces organismes. On ne saurait aller plus loin dans les preuves de la corrélation qui existe entre ces derniers et les altérations proprement dites de la bière. Ce n'est pas par des preuves plus décisives qu'on établit la relation de cause à effet dans la succession des phénomènes physiques.

CHAPITRE III.

DE L'ORIGINE DES FERMENTS PROPREMENT DITS.

Le nouveau procédé de fabrication de la bière, objet principal de cet Ouvrage, qui formera comme une déduction immédiate et nécessaire des faits nouveaux qui y sont exposés, serait mal compris, sans la connaissance de tous les principes sur lesquels il repose. Un des plus utiles se rapporte à la pureté du ferment. Mais à quoi servirait l'emploi d'une levûre, pure de tous germes étrangers, si les matières organiques naturelles avaient le pouvoir de s'organiser, soit par voie de génération spontanée, soit par transformation de quelques-unes d'entre elles, soit même par la transformation des êtres microscopiques les uns dans les autres? Ces opinions sont encore soutenues avec ardeur; mais, à mon avis, bien plus par sentiment ou par esprit de système que par des preuves expérimentales sérieuses.

Quoi qu'il en soit, nous avons à dégager notre étude de toutes les hypothèses qui pourraient amoindrir la rigueur des principes du procédé nouveau ou compromettre aux yeux du lecteur la possibilité de son application et de ses résultats.

§ I. — Des conditions qui font varier la nature des productions organisées des infusions.

L'expérience nous a prouvé, au Chapitre précédent, qu'une ébullition de quelques minutes donnait au moût de bière en particulier une inaltérabilité absolue au contact de l'air pur, c'est-à-dire de l'air privé des germes d'organismes qu'il charrie sans cesse.

Ce qui est vrai du moût de bière l'est également de tous les liquides organiques ; on n'en trouverait pas un seul qui ne pût être rendu impropre à toute altération ultérieure, après avoir été porté préalablement à une température minimum convenable, température variable avec la nature des liquides. Parmi ceux-ci il en est, comme le vinaigre, qui deviennent inaltérables à la suite d'une exposition rapide à 50° seulement. D'autres, le vin par exemple, exigent quelques degrés de plus. Le moût de bière non houblonné doit être soumis à plus de 90°, le lait à 110° environ (1).

On prouve aisément que ces différences dans les températures propres à assurer l'inaltérabilité ultérieure des liquides organiques ont pour cause exclusive l'état de ces liquides, leur nature et surtout les conditions de neutralité, d'acidité ou d'alcalinité dans lesquelles ils se trouvent, car il est facile d'observer que les moindres changements sous ces rapports en amènent de considérables dans les températures dont il s'agit (2). Je pourrais en citer de nombreux exemples. Entre la nature du moût de raisin et celle du vin il n'y a de différence que celle que la fermentation a provoquée. On peut en dire autant du moût de bière comparé à la bière proprement dite, mieux encore du lait brut comparé au lait aigri...... Or le moût de raisin, pour être rendu inaltérable, exige une température bien plus élevée que le vin, comme aussi le moût de bière comparé à la bière. Le lait exige environ 110°, comme je viens de le rappeler; le lait aigri demanderait certainement 20° à 30° de moins. L'urine à l'état frais devient inaltérable après qu'elle a été portée à une température inférieure à 100°; elle demande une température qui dépasse 100°, après qu'on l'a fait bouillir en présence du carbonate de chaux.

Quant à l'explication de l'influence de l'acidité ou de l'alca-

---

(1) On a cité des liquides encore plus réfractaires qui demanderaient 120° et davantage : je n'ai pas eu occasion d'en étudier de semblables.

(2) *Voir* mon *Mémoire sur les générations dites spontanées* (*Annales de Chimie et de Physique*, t. LXIV, 3e série, année 1862).

linité pour diminuer ou pour accroître la température propre à rendre ultérieurement inaltérables les infusions et les matières organiques, quoique ce soit un sujet qui réclame encore des études directes, je suis porté à croire que l'acidité permet et que l'alcalinité empêche la pénétration de l'humidité dans l'intérieur des cellules germes, associées aux infusions, de telle sorte que chauffer les enveloppes de ces cellules ou les parois de leurs kystes dans un milieu alcalin, c'est chauffer les germes à l'état sec; les chauffer dans un milieu acide, c'est les chauffer à l'état humide, et l'on sait qu'il y a sous ce rapport une grande inégalité dans la résistance à la température. Telle spore de moisissure qui, à l'état humide, ne supporte pas sans périr une température de 60° à 100°, conserve sa fécondité après qu'on l'a chauffée à 120°, si elle a été au préalable bien desséchée. (*Mémoire* déjà cité *sur les générations dites spontanées.*)

La nature des productions spontanées qu'on voit apparaître dans les liquides organiques est également influencée à un haut degré par les plus faibles changements dans la composition des liquides; d'une manière générale, ainsi que j'en ai donné maintes preuves dans mes travaux antérieurs, une faible acidité nuit au développement des bactéries et des infusoires, et favorise, au contraire, l'apparition des moisissures. La neutralité ou une faible alcalinité agissent d'une manière précisément inverse.

Les partisans de la génération spontanée ont voulu voir dans ces différences de nature entre les productions organisées de divers liquides, exposés simultanément à l'atmosphère d'un même lieu, un argument en faveur de leur doctrine, tandis que ces différences ne sont qu'un effet de l'appropriation plus ou moins grande de tel ou tel liquide à une culture déterminée. Sur un liquide organique acide, le moût de raisin, par exemple, exposé à l'air libre, tombent simultanément des spores de mucédinées et des germes de bactéries, de leptotrix, de vibrions, etc.; mais ces derniers germes sont très-gênés dans leur développement, si même ils ne sont pas tués par l'acidité du liquide. On ne saurait donc les y rencontrer à l'état adulte.

La plupart des moisissures se plaisent, au contraire, sur les liquides acides et, dès lors, elles y apparaissent à peu près seules ; mais on commencerait par saturer le moût de raisin, à l'aide du carbonate de chaux (brut ou préalablement chauffé), qu'on constaterait des phénomènes opposés : bactéries, ferments lactiques, vibrions butyriques envahiraient le terrain longtemps avant que les spores de moisissure aient le temps de pousser, parce que leur germination est très-languissante dans les liquides neutres ou alcalins et que, une fois recouverte ou remplie par un organisme vivace, une infusion a beaucoup de peine à en nourrir d'autres. Le premier développé utilise à son profit les aliments, notamment le gaz oxygène.

Ces différences si marquées dans l'appropriation des liquides à telle ou telle culture peuvent créer des illusions sans nombre et sont une des grandes sources d'erreurs dans les études dont nous parlons. Que l'on cultive dans un liquide acide, tel que le moût de raisin, une levûre alcoolique dont le développement n'est pas arrêté par la qualité acide du milieu, elle s'y multipliera et rien ne s'opposera à ce qu'on répète plusieurs fois sa culture dans ce milieu acide. Cela posé, admettons que notre levûre alcoolique soit impure, mêlée, par exemple, de filaments du vin tourné, qui est une levûre gênée dans son développement par les qualités propres au moût de raisin. Dans la répétition des cultures de la levûre alcoolique dans ce moût de raisin, la levûre filamenteuse qui ne s'y régénère pas ou péniblement, et qui était présente par hypothèse dans la première semence, va bientôt devenir très-rare dans le champ du microscope; elle ne disparaîtra pas néanmoins, puisque ces cultures répétées ne font que diluer la première semence ajoutée; mais pour l'œil elle n'existera plus, tant elle deviendra difficile à retrouver. Dès lors l'illusion est imminente pour l'expérimentateur. Ne voyant plus cette levûre étrangère, il sera porté à la croire absente et autorisé à se servir de la levûre alcoolique comme étant pure de tout mélange, sans avoir soumis cette pureté à un contrôle expérimental direct.

Je trouve un exemple de cette illusion dans un travail récent

de M. Jules Duval. Cet auteur a publié une théorie d'après laquelle la levûre se transforme en levûre lactique, et également dans d'autres levûres, celle de l'urée par exemple, à la seule condition, suivant cet auteur, de la cultiver dans des milieux convenables. Les preuves qu'il donne de ses conclusions sont tout à fait inadmissibles, et la simple lecture de ses expériences suffit pour en reconnaître les nombreuses causes d'erreur. M. Duval croit que la levûre de bière se transforme en levûre lactique, parce que, en semant la première dans du petit-lait auquel il a ajouté du glucose, de la craie et du phosphate d'ammoniaque, il obtient une fermentation qui fournit du lactate de chaux et de la levûre lactique; mais il ne s'assure pas le moins du monde qu'il a introduit dans ce milieu, très-propre, en effet, à la fermentation lactique, parce qu'il est un peu alcalin, de la levûre alcoolique réellement pure. C'était le point délicat des expériences de l'auteur. Il le reconnaît bien, mais il se trompe lui-même en disant, sans preuve : « Ma levûre alcoolique est pure, car je l'ai cultivée plusieurs fois dans du moût de raisin conservé dans des ballons préparés à la manière de ceux dont M. Pasteur s'est servi dans ses expériences. » Ce n'est là qu'une assertion. Un contrôle expérimental direct eût prouvé que la levûre était impure.

Non, la levûre de bière ne se transforme pas en levûre lactique. Quel que soit le milieu dans lequel on la sème, *si elle est véritablement pure,* elle ne donne jamais la moindre trace de levûre lactique, pas plus qu'elle ne donne la levûre de l'urée... Par la variation dans la nature du milieu, dans la température, etc., les cellules de la levûre peuvent devenir ovales, allongées, sphériques, plus ou moins grosses, mais jamais elles ne donnent la plus petite quantité de levûre lactique ou d'acide lactique. Toute la théorie de la mutabilité de la levûre en d'autres levûres, publiée par M. Duval, est imaginaire (1).

---

(1) JULES DUVAL (de Versailles), *Nouveaux faits concernant la mutabilité des germes microscopiques. Rôle passif des êtres classés sous le nom de* ferments. (Voir

J'ai dit que l'origine ou la provenance des substances qu'on expose au contact de l'air est également une des causes de la multiplicité des productions végétales ou animales qui apparaissent dans les infusions organiques. On le comprendra aisément : lorsque nous soumettons les infusions à des températures plus ou moins élevées, dans le but de détruire la vitalité des germes qu'elles peuvent contenir, nous supprimons complétement les germes de deux origines : ceux que l'infusion a pu recevoir directement de l'air atmosphérique ou des poussières des ustensiles employés, et, en outre, ceux qu'ont apportés les matériaux qui ont servi à faire l'infusion ou la décoction, matériaux dont la provenance est plus ou moins lointaine et particulière. Après un chauffage préalable suffisant, une infusion ne peut plus donner asile et nourriture qu'aux germes ultérieurement apportés par l'air commun. Or la nature des germes en suspension dans l'air est loin d'être aussi variée qu'on se plaît à l'imaginer sous l'empire d'une interprétation arbitraire et fautive des connaissances acquises et des discussions de ces quinze dernières années. A moins d'être fort agité, l'air ne peut tenir en suspension que des particules d'une grande ténuité. Or les observations auxquelles on s'est livré sur la nature des organismes spontanés des infusions ont toujours été faites dans des lieux abrités, dans des appartements ou dans des laboratoires dont l'atmosphère est relativement très-calme. C'est pourquoi la flore et la faune, si l'on peut s'exprimer ainsi, des liquides préalablement chauffés est très-pauvre, d'autant plus que, suivant la remarque que j'ai faite tout à l'heure, bon nombre des organismes qui prendraient volontiers naissance si on leur laissait le temps de germer en sont empêchés par d'autres d'un plus rapide développement. Cela est si vrai qu'on observe plus de variabilité dans la nature et le nombre des espèces des microphytes et des microzoaires, lorsqu'on distribue une même

Journal d'Anatomie et de Physiologie, de Ch. Robin. Septembre et octobre 1874, et *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, novembre 1874). Nous verrons que M. Béchamp avait déjà commis plusieurs erreurs de cette nature.

infusion dans plusieurs vases qu'on referme ensuite (ce qui soumet chaque portion du liquide aux seuls germes en suspension dans le volume d'air introduit) que si l'on abandonne l'infusion à un volume illimité d'air ambiant. Très-souvent on saisit, par cette méthode, des germes qui arrivent, sans mélange d'autres, au contact du liquide nutritif et finissent par s'y multiplier, parce que d'autres productions plus vivaces ne viennent pas gêner leur nutrition lente et difficile.

Plus variées sont les productions auxquelles donnent lieu les infusions brutes, c'est-à-dire celles qu'on obtient à froid par la macération des matières organiques, feuilles, fruits, graines, organes de plantes ou d'animaux. C'est que ces matières portent généralement, outre les poussières d'un air agité par les vents, les parasites microscopiques qui se plaisent à leur surface ou dans leur voisinage. Citons à cet égard quelques observations précises, car le sujet offre un grand intérêt.

Qu'on fasse bouillir une infusion de foin et qu'on l'expose ensuite au contact de l'air dans un appartement, toutes les productions, je viens de le dire, proviendront des germes qu'un air, relativement calme, peut charrier : aussi n'est-ce que très-rarement qu'on verra, par exemple, apparaître des kolpodes, parce que les germes de ces infusoires, qui sont formés de kystes assez volumineux, ne peuvent guère exister en suspension dans l'air d'un lieu abrité, malgré leur prodigieuse diffusion dans la nature. Au contraire, on voit à peu près constamment les kolpodes se montrer dans la macération de foin brut. Cette différence s'explique aisément : les poussières répandues sur le foin, surtout s'il provient des lieux marécageux, contiennent beaucoup de kystes de kolpodes. Comment en serait-il autrement? La pluie tombe sur une prairie : de petites flaques d'eau se forment et séjournent un temps plus ou moins long au pied des diverses herbes qui la composent ; là pullulent bientôt une multitude d'infusoires et notamment des kolpodes. Arrive la sécheresse, les kolpodes s'enkystent et forment une poussière que les vents soulèvent sur les brins d'herbe, de telle sorte que le faucheur emportera chez lui, outre les plantes qui compo-

sent le foin, des myriades de kolpodes, de spores de mucédinées, etc. (1).

La macération du poivre donne des infusoires qu'on ne trouve guère dans d'autres infusions; la raison en est que là où le poivre a vécu, ces infusoires existent; en d'autres termes, leurs germes sont exotiques. Il n'est pas plus surprenant qu'une infusion d'une plante spéciale offre des infusoires spéciaux que de trouver sur une plante déterminée un parasite ou un insecte qu'on ne rencontre pas sur une plante voisine, d'autre espèce que la première. C'est ainsi que les germes de la levûre du raisin sont répandus à la surface des grains de raisin et de leurs grappes. N'est-il pas naturel de trouver, pour habitat des germes d'un parasite, l'organe ou la plante qui servira plus tard de nourriture à ce parasite?

§ II. — Expériences sur le sang et l'urine pris a l'état normal et exposés au contact de l'air dépouillé des poussières qu'il tient en suspension.

Recourir à l'application préalable de la chaleur est un excellent moyen, comme je viens de le rappeler, pour se procurer des liquides organiques vierges de tout germe d'altération; mais, pour atteindre ce but, il existe une autre méthode plus remarquable et plus instructive, plus inattendue même, quoiqu'on puisse dire qu'elle ressort en quelque façon de la nature des choses. Cette méthode consiste à aller chercher la pureté dans des liquides naturels d'animaux ou de plantes. Ne serait-il pas difficile de comprendre que les liquides qui circulent dans les organes du corps des animaux, le sang, l'urine, le lait, l'eau de l'amnios, etc., pussent recéler des germes d'organismes microscopiques? Combien ne seraient pas nombreuses les occasions où ces germes, s'ils existaient dans les liquides de l'économie, pourraient se multiplier? Vraisemblablement, avec de

(1) *Voir* à ce sujet les observations de M. Coste (*Comptes rendus de l'Académie*, t. LIX, p. 149 et 358; 1864).

pareils hôtes, la vie deviendrait promptement impossible ; témoin le cortége des maladies que beaucoup des meilleurs esprits sont portés aujourd'hui à attribuer à des développements parasitaires de cette nature. Des médecins très-autorisés s'accordent maintenant à penser que les questions de contagion et d'infection trouveront, dans une étude approfondie des ferments, des solutions aux obscurités qu'elles soulèvent, que l'Hygiène et la Médecine doivent poursuivre par tous les moyens possibles la destruction des germes des ferments et s'opposer à leur multiplication et à leurs ravages quand ils sont développés. Dans cette direction, de grands progrès ont été accomplis, et c'est un insigne honneur pour mes recherches qu'elles soient considérées, par les auteurs mêmes de ces progrès, comme la source à laquelle ils ont puisé leurs premières inspirations. On m'excusera d'en fixer ici le souvenir par quelques détails historiques, nécessaires d'ailleurs à l'intelligence des principes que j'expose dans cet Ouvrage.

Je suis le premier, toutefois, à regretter qu'on étende outre mesure les conséquences des faits acquis. Les exagérations des idées nouvelles amènent infailliblement une réaction qui, elle-même, dépassant le but, jette la défaveur sur ce que ces idées ont de juste et de fécond. Déjà, par divers symptômes et comme contre-coup des exagérations dont je parle, on peut pressentir un entraînement irréfléchi vers la négation que certaines maladies puissent être dues à des ferments spéciaux, de la nature de ceux qui ont été découverts dans les vingt dernières années, ferments organisés et vivants. De part et d'autre on devrait s'en tenir aux faits, contrôler ceux qui ont été annoncés si l'on est porté à les mettre en doute, en rechercher de nouveaux et ne déduire, des uns et des autres, que des idées qui leur soient adéquates pour ainsi dire, car le sujet commence à peine à être exploré.

Malheureusement les médecins se plaisent volontiers dans les généralisations anticipées. Beaucoup d'entre eux sont des hommes d'une rare distinction naturelle ou acquise, doués d'une intelligence vive, d'une parole élégante et facile ; mais

plus ils sont éminents, plus l'art les absorbe et moins ils ont de loisirs pour le travail d'investigation. Poussés, néanmoins, par la passion du savoir, propre aux esprits d'élite, et qu'entretiennent les relations de la haute société de plus en plus curieuse des choses de la Science, ils s'emparent avidement des théories faciles, spécieuses, d'autant plus générales et appropriées aux explications vagues qu'elles sont mal établies par les faits.

Lorsqu'on voit la bière et le vin éprouver de profondes altérations parce que ces liquides ont donné asile à des organismes microscopiques, qui se sont introduits d'une manière invisible et fortuitement dans leur intérieur, où ils ont ensuite pullulé, comment n'être pas obsédé par la pensée que des faits du même ordre peuvent et doivent se présenter quelquefois chez l'homme et chez les animaux? Mais si nous sommes disposés à croire que cela est parce que nous le jugeons vraisemblable et possible, efforçons-nous aussitôt, avant de l'affirmer, de nous rappeler l'épigraphe de ce livre : *le plus grand déréglement de l'esprit est de croire les choses parce qu'on veut qu'elles soient.*

Un des membres les plus distingués de l'Académie de Médecine, M. Davainne, qui s'est occupé le premier de recherches expérimentales rigoureuses sur l'influence des ferments organisés dans la production et la propagation des maladies infectieuses, rapporte que l'idée de ses recherches sur le *sang de rate* et la *maladie charbonneuse* lui fut suggérée par la lecture de mon travail sur la fermentation butyrique, publié en 1861.

En 1850, M. Rayer et lui avaient constaté dans le sang des animaux atteints de ces affections l'existence de petits corps filiformes auxquels ils avaient donné peu d'attention et dont le souvenir revint à l'esprit de M. Davainne, lors de la présentation de mon Mémoire. Il eut alors cette prévision d'inventeur sagace, qui fut confirmée bientôt par ses recherches, d'une manière décisive, que la maladie connue sous le nom de *sang de rate* pourrait bien être le produit d'une fermentation analogue à la fermentation butyrique, dans laquelle les petits corps fili-

formes observés par M. Rayer et par lui, en 1850, joueraient le rôle des vibrions dans la fermentation butyrique.

Moins de deux ans après, parurent les premiers travaux de MM. Coze et Feltz. Ces habiles et courageux expérimentateurs placent le point de départ de leurs belles recherches dans la lecture de mon travail sur la putréfaction, publié en 1863.

Je pourrais citer encore l'expérience saisissante et admirablement conçue de M. le Dr Chauveau sur le bistournage; mais je ne résisterai pas au désir de reproduire ici une lettre qui m'a été adressée en 1874, par le célèbre chirurgien d'Édimbourg, le Dr Lister.

« Édimbourg, 10 février 1874.

» Mon cher Monsieur,

» Voulez-vous me permettre de vous offrir une brochure que je vous envoie par le même courrier et qui rend compte de quelques recherches sur un sujet que vous avez entouré de tant de lumière: la théorie des germes et de la fermentation. J'aime à croire que vous pourrez lire avec quelque intérêt ce que j'ai écrit sur un organisme que vous avez le premier étudié dans votre *Mémoire sur la fermentation appelée lactique*.

» J'ignore si les annales de la Chirurgie britannique ont jamais passé sous vos yeux. Dans le cas où vous les auriez lues, vous avez dû y trouver, de temps à autre, des nouvelles du système antiseptique que, depuis ces neuf dernières années, je tâche d'amener à la perfection.

» Permettez-moi de saisir cette occasion de vous adresser mes plus cordiaux remercîments pour m'avoir, par vos brillantes recherches, démontré la vérité de la théorie des germes de putréfaction et m'avoir ainsi donné le seul principe qui pût mener à bonne fin le système antiseptique.

» Si jamais vous veniez à Édimbourg ce serait, je crois, une vraie récompense pour vous, que de voir à notre hôpital dans quelle large mesure le genre humain a profité de vos travaux. Ai-je besoin d'ajouter quelle grande satisfaction j'éprouverais à vous montrer ici ce dont la Chirurgie vous est redevable.

» Excusez la franchise qui m'est inspirée par notre commun amour de la Science et croyez au profond respect de votre très-sincère

» JOSEPH LISTER. »

Le pansement ouaté du Dr Alph. Guérin, chirurgien de l'Hôtel-Dieu de Paris, pansement qui a rendu déjà de grands services à la Chirurgie et qui a été l'objet d'un Rapport très-favorable à l'Académie des Sciences de Paris, a été imaginé par son auteur, à la suite des réflexions que lui avait suggérées la lecture de mes recherches.

La Commission chargée du Rapport a fait, par l'organe de M. Gosselin, de sages réserves au sujet des idées théoriques de l'auteur, par la raison que M. Alph. Guérin ne les avait pas suffisamment établies expérimentalement; mais je ne doute pas que, le jour où l'on abordera cette démonstration, les faits confirmeront la vérité et la fécondité des vues du chirurgien de l'Hôtel-Dieu.

Le Dr Déclat a fondé toute une médecine des maladies infectieuses sur l'emploi d'un des meilleurs antiseptiques connus, l'acide phénique, d'après cette présomption, que l'auteur dit lui avoir été suggérée également par mes études sur les fermentations, savoir : que les maladies qui se transmettent sont le produit, chacune, d'un ferment spécial, et que la Thérapeutique médicale ou chirurgicale doit s'efforcer d'empêcher la pénétration des ferments venus de l'extérieur dans les liquides de l'économie ou, s'ils y ont pénétré, de trouver des *antiferments* pour les y détruire, sans toutefois altérer la vitalité des éléments histologiques des liquides ou des tissus.

Sans doute, il faut marcher dans cette voie avec une grande prudence, comme l'a fait remarquer avec autorité M. Sédillot; pourtant il n'est pas douteux que, plus on y avance avec rigueur, plus se confirment les idées qui ont guidé les praticiens célèbres qui l'ont ouverte. Je peux en citer un nouvel exemple.

En 1874, à la suite d'une Communication à l'Académie des Sciences, par MM. Gosselin et A. Robin, sur l'urine ammo-

niacale, je fis observer qu'on devrait rechercher si, dans tous les cas, les urines n'étaient pas rendues ammoniacales par la présence du petit ferment de l'urée que j'ai signalé autrefois (*voir* mon *Mémoire sur les générations dites spontanées*, pages 51 et 52, année 1862), et qui a été depuis étudié avec un rare talent par M. Van Tieghem dans la thèse qu'il soutint pour obtenir le grade de docteur. Ma proposition et les considérations qui la motivaient provoquèrent une discussion devant l'Académie de Médecine, où des opinions contradictoires furent émises. Je m'empressai de soumettre celles-ci à l'épreuve des faits. Or je ne trouvai pas un seul malade, avec urines ammoniacales, sans y rencontrer le petit ferment dont je parle. Mes prévisions se trouvèrent ainsi complétement justifiées.

Déjà en 1864, la *Gazette hebdomadaire de Médecine et de Chirurgie* avait publié une observation d'urine rendue ammoniacale dans la vessie, où l'auteur, le Dr Traube, s'exprime ainsi : « On croyait que, par suite de la distension résultant de la rétention du liquide, la vessie irritée produisait une quantité plus grande de mucus, et ce mucus était le ferment qui amenait la décomposition de l'urée, en vertu d'une force chimique propre. Cette opinion ne peut tenir devant les recherches de M. Pasteur : cet observateur a démontré, de la façon la plus péremptoire, que la fermentation ammoniacale, comme l'alcoolique, comme l'acétique, est produite par des êtres vivants dont la préexistence dans la liqueur fermentescible est la condition *sine qua non* du processus. Le fait précédent offre une démonstration remarquable de la doctrine de M. Pasteur. Malgré la longue durée de la rétention, la fermentation alcaline n'a point été produite par une sécrétion exagérée de mucus vésical ou de pus : elle ne s'est développée qu'à partir du moment où des germes de vibrions sont parvenus du dehors dans la vessie (1). »

---

(1) DAVAINNE, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. LVII, p. 220, année 1863.

COZE et FELTZ, *Recherches cliniques et expérimentales sur les maladies infec-*

En définitive, on peut conclure rigoureusement que les liquides de l'économie, le sang et l'urine par exemple, peuvent donner asile à des ferments divers, au sein même des organes, quand des causes extérieures viennent à faire pénétrer dans ces liquides les germes de ces ferments et que des maladies plus ou moins graves en sont la conséquence : par contre on doit admettre que, dans l'état de santé, le corps des animaux est fermé à l'introduction de ces germes extérieurs. Toutefois, au sujet de cette dernière assertion, des expériences directes peuvent seules porter la conviction dans les esprits. Allons donc chercher dans l'intérieur des êtres vivants, en pleine santé, tel ou tel des matériaux qui s'y rencontrent pour les exposer, dans l'état même où la vie les a formés, au contact de l'air pur.

Dans ce but, je me suis servi d'un ballon de verre joint à un robinet de laiton par un tube de caoutchouc, comme l'indique la *fig.* 5. Les deux branches du robinet ont environ 12^{c}; celle qui est libre est un peu effilée comme l'extrémité d'une canule. Afin de purger ce ballon de tout germe intérieur, on fait communiquer l'extrémité libre du tube de laiton avec un tube de platine fortement chauffé, après avoir eu soin d'introduire dans

---

tieuses..... Paris, J.-B. Baillière, 1872. Résumé de tous leurs travaux antérieurs depuis 1865.

Dr Lister, Journaux de Médecine et de Chirurgie, particulièrement dans la *Lancet*, de 1865 à 1867.

Dr Guérin, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 23 mars 1874 et 28 mai 1874, et Rapport de M. Gosselin, décembre 1854.

Dr Sédillot, *Comptes rendus de l'Académie*, novembre 1874, t. LXXIX, p. 1108.

Pasteur, *Mémoire sur la fermentation appelée lactique*. (*Annales de Chimie et de Physique*, t. LII, 3e série, 1875.) — *Animalcules, infusoires vivant sans gaz oxygène libre et déterminant des fermentations*. (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. LII, 1861.) — *Recherches sur la putréfaction*. (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. LVI, 1863.)

Gosselin, Robin et Pasteur, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 5 janvier 1874. — *Urines ammoniacales*.

Traube, *Gazette hebdomadaire de Médecine et de Chirurgie*. — *Sur la fermentation alcaline de l'urine*, 8 avril 1864.

Chauveau, *Putréfaction dans l'animal vivant*. (*Comptes rendus de l'Académie*, 28 avril 1873.)

le ballon une petite quantité d'eau qu'on réduit en vapeur; puis on laisse refroidir le ballon, dans lequel rentre de l'air qui a passé par le tube chaud (*fig.* 6).

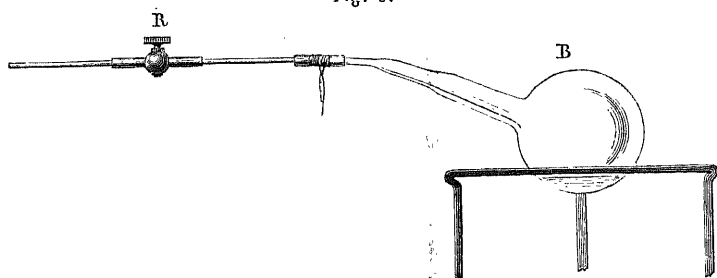
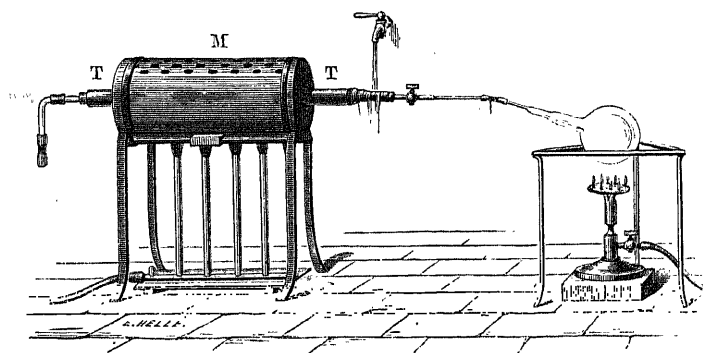
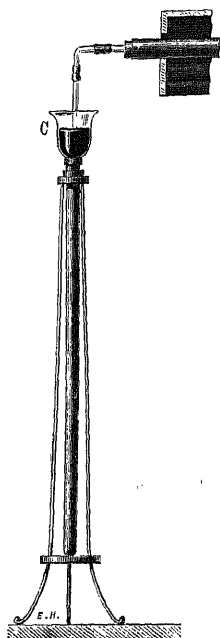
Fig. 5.

On peut faire bouillir l'eau dans le ballon à une température supérieure à 100°, en adaptant à l'extrémité libre du tube de platine un tube de verre recourbé à angle droit, qui plonge

Fig. 6.

plus ou moins dans une cuvette profonde remplie de mercure (*fig.* 7). Pendant que l'eau est en ébullition sous pression, on sépare le tube qui plonge dans le mercure : l'eau continue à bouillir dans le ballon à la pression ordinaire ; on laisse alors refroidir le ballon, qui se remplit peu à peu d'air porté à une

température élevée, plus que suffisante pour brûler toutes les poussières organiques que cet air peut renfermer.

Quand le ballon est refroidi, on le détache après avoir fermé le robinet, et l'on passe à la préparation d'autres ballons semblables. Il est utile de fermer le robinet du ballon lorsque la température de ce dernier est encore de quelques degrés au-

Fig. 7.

dessus de la température ambiante : par cette précaution, l'air du ballon refroidi se trouve à une pression moindre que la pression extérieure.

Dans l'intervalle de temps qui s'écoule entre la préparation d'un ballon et le moment où l'on s'en sert, il est bon de tenir la branche libre du robinet inclinée vers le bas, afin de garantir l'intérieur de son canal contre le dépôt des poussières extérieures. Quoi qu'il en soit, au moment où l'on doit mettre un

ballon en expérience, il faut avoir soin de chauffer cette branche à l'aide de la flamme d'une lampe à alcool.

S'agit-il de l'étude du sang, on le prendra sur un animal vivant, un chien par exemple : on met à nu une veine ou une artère de l'animal, on pratique une incision dans laquelle est introduite l'extrémité de la branche libre du robinet, préalablement chauffée et refroidie, qu'on fixe par une ligature dans la veine ou l'artère, puis on ouvre le robinet : le sang coule dans le ballon ; on referme le robinet, et l'on porte le ballon dans une étuve à une température déterminée. J'ai pu mener à bien ces manipulations, grâce au concours obligeant de mon illustre confrère et ami, M. Claude Bernard.

Pour l'urine, on opère à peu près de la même manière. L'extrémité de la branche libre du robinet est introduite dans le canal de l'urètre; au moment de l'émission de l'urine, on tourne le robinet, et l'urine est lancée dans le ballon, qu'on remplit à moitié ou au tiers environ.

Voici les résultats de ces expériences :

Le sang ne se putréfie pas, même aux plus hautes températures de l'atmosphère; son odeur reste celle du sang frais ou prend une odeur de lessive. Contrairement à ce qu'on aurait pu croire, l'oxydation directe des principes du sang par combustion lente n'est pas très-active; après une exposition des ballons dans une étuve à 25° ou 30° pendant plusieurs semaines, on n'observe encore qu'une absorption de 2 à 3 pour 100 de gaz oxygène, lequel est remplacé par un volume sensiblement égal de gaz acide carbonique (1).

(1) Je ne puis passer sous silence un curieux résultat, relatif à ce qu'on a appelé les *cristaux du sang*. On ne saurait recourir à une meilleure méthode pour en préparer en aussi grande quantité qu'on puisse le désirer, du moins ceux du sang de chien, qui paraissent être les plus faciles à obtenir.

Dans les circonstances dont je viens de parler, où le sang de chien exposé au contact de l'air pur ne se putréfie pas du tout, les cristaux de ce sang se forment avec une remarquable facilité. Dès les premiers jours de son exposition à l'étuve, lentement à la température ordinaire, le sérum se colore peu à peu en brun foncé. Au fur et à mesure que cet effet se produit, les globules du sang disparaissent, et

L'urine se comporte d'une manière analogue : elle n'éprouve aucune altération profonde ; sa coloration prend seulement une teinte brun rougeâtre ; elle dépose des cristaux en petite quantité, mais sans se troubler ni se putréfier d'aucune façon. L'oxydation directe des matériaux de l'urine est également très-faible. Après quarante jours, l'analyse de l'air d'un des ballons a fourni :

Oxygène	19,2
Acide carbonique	0,8
Azote	80,0
	100,0

Les expériences que je viens de rappeler sur le sang et l'urine pris à l'état naturel datent de 1863 (1). Dix ans après, en 1873, elles ont reçu une confirmation précieuse et remarquable par les résultats d'un travail fort distingué, exécuté dans mon laboratoire par M. Gayon, ancien élève de l'École Normale supérieure. M. Gayon a démontré que ce qui était vrai pour le sang et pour l'urine était vrai aussi pour le contenu des œufs. On peut exposer aussi longtemps qu'on le veut, au contact de l'air en repos ou en mouvement, le blanc de l'œuf, le jaune de l'œuf ou le blanc et le jaune réunis, sans que la putréfaction ni aucune fermentation s'y déclare, sans qu'on voie apparaître le moindre organisme microscopique, à la seule condition que l'air soit débarrassé des poussières organiques, germes de moisissures, de bactéries, de vibrions, etc., qu'il tient en suspension. Ce n'est là du reste qu'une partie des faits importants signalés par

---

le sérum et le caillot se remplissent de cristaux très-nets, teints en brun ou en rouge. Après quelques semaines il ne reste plus un seul globule sanguin ni dans le sérum ni dans le caillot ; chaque goutte de sérum renferme de ces cristaux par milliers et la plus petite parcelle de caillot écrasée sous la lame de verre offre de la *fibrine incolore*, très-élastique, associée à des amas de cristaux, sans que l'on puisse découvrir nulle part la moindre trace de globules du sang. Si l'on attend plus longtemps encore, il arrive quelquefois que toute la fibrine se rassemble en une seule *masse hyaline qui* a expulsé peu à peu de son intérieur tous les cristaux.

(1) PASTEUR, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. LVI, p. 738 ; 1863.

M. Gayon. Ses recherches ont prouvé, en outre, que la putréfaction spontanée des œufs est toujours le produit de la multiplication de ferments organisés, ce qui a heureusement rectifié les résultats contraires annoncés par M. Donné et par M. Béchamp, qui avaient cru observer que l'altération des œufs s'accomplissait hors de toute action des vibrioniens ou des mucédinées (1).

Il est presque superflu de faire remarquer combien les résultats de ces expériences au sujet du sang, de l'urine et des principes de l'œuf sont directement contraires à la doctrine des générations spontanées, aussi bien qu'à la plupart des théories modernes sur la génération des ferments. Tant que les expériences relatives à la question des générations dites *spontanées* ont porté sur des matières cuites, les partisans de l'hétérogénie pouvaient prétendre que ces matières ne satisfaisaient point aux conditions de la vie spontanée, mais qu'il en serait autrement avec des liquides organiques naturels; que ceux-ci exposés au contact de l'air pur seraient propres sans doute à la production d'êtres nouveaux non issus de parents semblables à eux. Cette nouvelle expression de l'hypothèse de la génération spontanée, et c'était la seule, à mon avis, qu'on pût invoquer encore après la publication de mon Mémoire de 1862, est condamnée par les faits qui précèdent.

Ces mêmes résultats rendent complétement inadmissibles les hypothèses émises dans ces derniers temps par MM. Fremy et Trécul au sujet des causes de la fermentation :

« A côté des principes immédiats définis, dit M. Fremy, que la synthèse peut former, tels que le glucose, l'acide oxalique et l'urée, il existe d'autres substances beaucoup moins stables que les précédentes, mais aussi beaucoup plus complexes quant à leur constitution; elles contiennent tous les éléments des organes : on y trouve du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène, de

---

(1) GAYON, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences* et *Annales scientifiques de l'École Normale supérieure;* 1874-1875.

l'azote, même du phosphore, du soufre, souvent de la chaux et des sels alcalins. Ces corps sont les albumines, la fibrine, la caséine, les substances vitellines, etc. La synthèse chimique ne les reproduit pas. Il est impossible, selon moi, de les considérer comme des principes immédiats définis; je les désigne sous le nom général de *corps hémiorganisés,* parce qu'ils tiennent le milieu entre le principe immédiat et le tissu organisé.

» Les corps hémiorganisés, qui contiennent tous les éléments des organes, peuvent, comme la graine sèche, se maintenir dans un état d'immobilité organique; mais aussi ils peuvent en sortir lorsque les circonstances deviennent favorables au développement organique. En raison de la force vitale qu'ils possèdent, ils éprouvent alors des décompositions successives, donnent naissance à des dérivés nouveaux et engendrent des ferments dont la production n'est pas due à une *génération spontanée,* mais à une *force vitale,* préexistant dans les corps hémiorganisés, et qui s'est simplement continuée en se manifestant par les transformations organiques les plus variées. »

Après avoir développé ces opinions hypothétiques et confuses, M. Fremy continue :

« Je ne les considère donc pas (les corps hémiorganisés) comme servant simplement de nourriture à des animaux et à des végétaux qui seraient les seuls agents des fermentations; mais je leur attribue un rôle direct, et j'admets que, sous les influences que j'ai citées précédemment (1), elles peuvent éprouver une organisation véritable et complète, et produire des ferments qui ne dérivent, comme on le voit, ni d'une graine, ni d'un œuf, mais d'un corps hémiorganisé dont la force vitale est devenue active (2).

» On voit que ces opinions sont bien différentes de celles que M. Pasteur a développées dans ses travaux, puisque nous fai-

(1) Parmi ces influences, « une des plus importantes, dit M. Fremy, est celle de l'*entraînement organique* » : autre hypothèse gratuite.

(2) Fremy, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences,* t. LVIII, p. 1167; 1864.

sons dériver le ferment alcoolique et le ferment lactique d'une substance albumineuse ; pour ne parler ici que de la fermentation alcoolique, j'admets que, dans la production du vin, c'est le suc même du fruit qui, au contact de l'air, donne naissance aux grains de levûre par la transformation de la matière albumineuse, tandis que M. Pasteur soutient que les grains de levûre ont été produits par des germes (1). »

J'ai combattu devant l'Académie des Sciences, où elles ont été produites, ces étranges propositions, qu'aucune expérience rigoureuse ne justifie. J'ai rappelé, à cette occasion, les faits dont j'ai parlé tout à l'heure sur le sang et l'urine. Comment instituer, en effet, des observations plus démonstratives contre le système de mon honorable confrère, puisqu'elles nous offrent des matières albuminoïdes naturelles qui font partie de matières éminemment putrescibles et fermentescibles, et qu'elles ne donnent naissance à des ferments d'aucune sorte quand on les expose au contact de l'air privé de ses poussières organiques?

Dans aucune circonstance connue, la matière albumineuse ne se transforme en grains de levûre ni en d'autres ferments organisés quelconques, et rien n'est plus chimérique, à mon avis, que l'hypothèse gratuite de l'hémiorganisme.

En voici de nouvelles preuves. Il s'agira cette fois d'un liquide formé par la vie d'un végétal.

§ III. — Expériences sur le suc intérieur des grains de raisin.

Au cours de la discussion qui eut lieu, devant l'Académie, au sujet de la génération des ferments proprement dits, il avait été beaucoup question de la plus ancienne des fermentations, celle qui fait le vin. Dès lors, je résolus de mettre au pied du

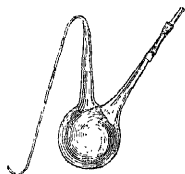
---

(1) Fremy, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. LXXIII, p. 1425; 1871.

M. Trécul partage les opinions de M. Fremy en les étendant à la naissance de diverses moisissures.

mur la théorie de M. Fremy, par une expérience décisive portant précisément sur le jus de raisin.

Je préparai quarante ballons de la forme ci-jointe (*fig.* 8) et d'une capacité de 250^{cc} à 300^{cc}, remplis à moitié de moût de

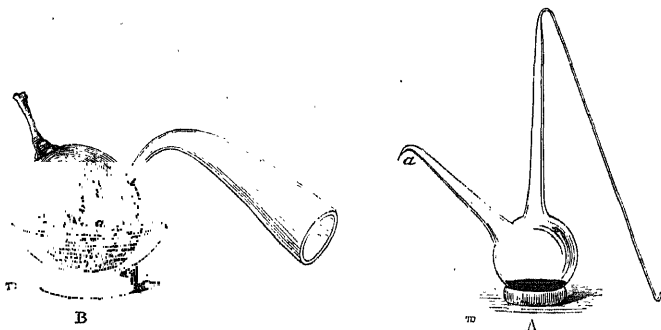
Fig. 8.

raisin filtré, parfaitement limpide et qui, comme tous les liquides acides, demeure intact après qu'on l'a fait bouillir quelques instants, quoique l'extrémité du col sinueux des vases qui le renferment reste constamment ouverte pendant des mois ou des années.

Dans quelques centimètres cubes d'eau, je lave un fragment d'une grappe de raisin, les grains seuls ou les grains et le bois de la grappe, ou même le bois de la grappe seul. (Ce lavage se fait bien au moyen d'un pinceau de blaireau très-propre; l'eau de lavage recueille toutes les poussières qui sont à la surface des grains et du bois de la grappe.) On constate facilement, au moyen du microscope, que cette eau tient en suspension une multitude de corpuscules organisés ressemblant à s'y méprendre, soit à des spores de moisissures, soit à des levûres alcooliques, soit à du *mycoderma vini*, etc. (1). Cela fait, on conserve pour témoins dix des quarante ballons; dans dix autres, on dépose, à l'aide de la tubulure droite de chaque ballon, quel-

(1) Cette observation a été déjà faite par Anthon et H. Hoffmann.

« Si l'on râcle, dit H. Hoffmann, avec un scalpel émoussé, la surface d'une gro-
» seille et qu'on porte sous le microscope ces raclures (qui sont blanchâtres), on
» y reconnaît, au milieu de toute espèce de saletés informes, de particules ter-
» reuses, etc., les mêmes spores de champignons qu'on trouve dans le jus exprimé;
» seulement on les y voit en quantité incomparablement plus grande. Elles sont
» les unes brunâtres (*Stemphylium*, *Cladosporium*), les autres incolores; ces der-

ques gouttes du liquide d'eau de lavage de la grappe de raisin ; dans une troisième série de dix autres ballons, on dépose quelques gouttes du même liquide, mais après l'avoir porté préalablement à l'ébullition. Enfin, dans les dix ballons restants, on introduit une goutte de jus de raisin prise dans l'intérieur même des grains entiers. A cet effet, on a eu soin de recourber, en l'effilant en pointe fine et fermée à la lampe, la tubulure droite de chacun de dix ballons de cette série, comme le représente la *fig.* 9, A.

Fig. 9.

Cette pointe effilée et fermée, sur laquelle on a fait un trait de lime tout près de son extrémité, est enfoncée, comme le représente la *fig.* B, dans un grain de raisin reposant sur un corps dur et, lorsqu'on sent que la pointe *b* touche au support du grain, on presse légèrement, un peu à faux, de façon à briser la pointe au trait de lime, en *a*. Alors, si l'on a eu soin de déterminer une faible diminution de pression dans l'air du ballon, une goutte du jus intérieur du grain pénètre dans le ballon ; on retire la pointe effilée, qu'on ferme immédiatement à la lampe à

» nières sont arrondies, ovoïdes, un peu fusiformes ou cylindriques. La plupart » d'entre elles sont semblables à des articles des chapelets d'*Oidium*, *Monilia*, » *Torula*, qui auraient été détachés, emportés par le vent et qui se seraient attachés au fruit, c'est-à-dire à des spores d'Hyphomycètes. Quelques-unes de ces » spores sont déjà pourvues de courts filaments germinatifs. »

(*Annales des Sciences naturelles*, *Botanique*, t. XIII, p. 21 ; année 1860.)

alcool. Cette diminution de pression dans l'air du ballon s'obtient par l'artifice suivant : après avoir échauffé avec les mains ou avec la flamme d'une lampe les parois du ballon, ce qui fait sortir un peu d'air par l'extrémité ouverte du col sinueux, on ferme à la lampe cette extrémité. Après le refroidissement, l'air du ballon se trouve disposé pour l'aspiration du suc intérieur du grain dans la manipulation qu'on vient de décrire.

La goutte de jus qui pénètre par aspiration dans le ballon reste ordinairement tout entière dans la partie courbe de la tubulure. Pour la mélanger au moût, on va la chercher en inclinant le ballon, ce qui amène le moût au contact de cette goutte ; puis on replace le ballon dans sa position naturelle.

Voici, dans tous les cas, les résultats qu'offrent ces quatre séries d'expériences comparatives.

Les dix premiers ballons (ballons témoins, contenant le moût de raisin bouilli au contact de l'air pur) ne montrent aucune production organisée : le moût de raisin pourrait y demeurer sans altération pendant une suite indéfinie d'années. Ceux de la deuxième série (ballons avec eau de lavage de la surface des grains et de la grappe), sans aucune exception, donnent lieu à une fermentation alcoolique qui, dans tous, se déclare déjà au bout de quarante-huit heures, quand on opère aux températures de l'été. En même temps que la levûre apparaît en traînées blanches qui, peu à peu, se réunissent sous forme d'un dépôt sur toutes les parois, on voit se former de petits flocons de *mycelium,* tantôt d'une moisissure, tantôt d'une autre ou de plusieurs réunies, moisissures tout à fait indépendantes d'ailleurs de la levûre ou des levûres alcooliques ; souvent aussi le *mycoderma vini* se montre à la surface du liquide après quelques jours. Les vibrions et le ferment lactique proprement dits ne sauraient apparaître à cause de la nature du liquide.

Les ballons de la troisième série (ballons avec eau de lavage de la surface des grains, mais préalablement portée à l'ébullition) restent aussi dépourvus de toute altération que ceux de la première. Enfin ceux de la quatrième série (ballons avec goutte de jus intérieur des grains de raisin) restent également

intacts, quoiqu'on ne puisse pas toujours répondre d'éloigner, pour tous sans exception, les causes d'erreur inévitables dans des expériences si délicates. Ces expériences ne peuvent laisser le moindre doute à l'esprit :

Le moût de raisin cuit ne fermente jamais au contact de l'air privé des germes qui s'y trouvent en suspension ;

Le moût de raisin cuit fermente quand on y introduit une très-petite quantité d'eau de lavage de la surface des grains de raisin ou de la surface du bois de la grappe ;

Le moût de raisin ne fermente pas après qu'on y a introduit cette eau de lavage portée à la température de l'ébullition, puis refroidie ;

Le moût de raisin ne fermente pas quand on y introduit une très-petite quantité du suc intérieur d'un grain de raisin (1).

La levûre qui fait fermenter le raisin dans la cuve de vendange vient donc de l'extérieur et non de l'intérieur des grains. Ainsi se trouve mise à néant l'hypothèse de MM. Trécul et Fremy, d'après laquelle la matière albumineuse se transformerait en grains de levûre par l'exercice d'une force vitale qui lui serait propre. A plus forte raison ne peut-il plus être question de la théorie de Liebig sur la transformation de la matière albuminoïde en ferments par suite d'une oxydation.

Le lecteur demandera ce que M. Fremy a pu opposer à des expériences si probantes. On aurait peine à l'imaginer :

« Dans des expériences que j'ai variées à l'infini, a-t-il dit, j'ai reconnu qu'il était presque impossible de déterminer une

---

(1) Les expériences dont nous parlons donnent lieu à une remarque qu'il est utile de connaître. Tous les liquides organiques, cuits ou non cuits, fixent à la longue l'oxygène de l'air. En même temps et certainement sous cette influence, ils prennent une coloration ambrée ou plus ou moins brune ; mais cet effet n'a lieu que si les liquides sont placés dans des conditions d'inaltérabilité. S'il y a possibilité de fermentation ou de développement de moisissures, ils restent à peu près incolores. Nul doute que la non-coloration doive être attribuée à ce que les organismes prennent pour eux l'oxygène qui serait nécessaire à la coloration. Dans les expériences que je viens de rappeler sur le moût de raisin, tous les ballons des séries intactes se colorent en jaune brun pâle. Tous ceux qui fermentent ou qui ont des moisissures sont incolores ou à très-peu près incolores.

fermentation alcoolique, appréciable par ses résultats, dans une seule goutte de suc de raisin, et j'ajoute que cette fermentation doit être plus difficile encore lorsque cette goutte se trouve noyée dans une quantité considérable de suc soumis préalablement à l'ébullition... » (*Comptes rendus de l'Académie*, séance du 28 octobre 1872.)

N'étais-je pas autorisé à dire, en commençant ce paragraphe, que j'allais mettre au pied du mur la théorie qui m'était opposée, puisque, pour la soutenir, on a été contraint d'invoquer des hypothèses aussi manifestement contraires à la vérité?

Dans la séance qui a suivi celle où M. Fremy a fait cette déclaration *sur les petites quantités qui ne fermentent pas*, je me suis donné le malicieux plaisir d'apporter une foule de très-petites ampoules fermées, dans chacune desquelles j'avais fait pénétrer par aspiration une goutte de moût de grains de raisin écrasés. J'ai brisé la pointe effilée de plusieurs d'entre elles, devant l'Académie, et toutes ont manifesté la fermentation de la goutte de liquide qu'elles contenaient par un brusque sifflement qui s'entendait à distance. M. Fremy était présent et garda le silence.

Voici des faits très-curieux au sujet de l'époque à laquelle la petite plante qui fournit la levûre est dans l'état de pouvoir provoquer la fermentation.

Le 25 juillet 1875, dans les environs d'Arbois (Jura), les raisins étaient encore verts, de la grosseur de petits pois. Je me transporte dans une vigne, loin des routes et des chemins, et là, avec de fins ciseaux, je détache d'une grappe des grains de raisin que je laisse tomber, munis de leurs pédoncules, dans des tubes à moitié remplis de moût de groseilles, rendu inaltérable par une ébullition préalable. Les tubes, refermés avec toutes les précautions convenables et à l'aide de bouchons de liége passés dans la flamme de la lampe à alcool, sont rapportés au laboratoire et abandonnés. Les jours suivants, on voit apparaître des moisissures diverses dans la plupart de ces tubes, mais aucun d'entre eux ne donne et n'a donné ultérieurement la moindre apparence de fermentation. Les germes de la le-

vûre, à ce moment de l'année, n'existent donc pas encore sur le bois des grappes, ni sur les grains de raisin. Je reviendrai au Chapitre V sur ce genre d'observations.

§ IV. — Mout de bière et mout de raisin exposés a l'air ordinaire.

Si les principes que j'ai exposés ont toute la vérité que je leur attribue, si la cause de l'altération des liquides organiques naturels ou artificiels est extérieure à ces liquides, si l'altération considérée en elle-même dépend de la nature et du nombre des poussières recueillies ici ou là, si elle est, en outre, profondément modifiée par la composition des liquides, l'exposition à l'air du moût de bière ou du moût de raisin devra nécessairement fournir, surtout au début, des productions organisées diverses et des fermentations variées, comme aussi, dans d'autres circonstances, la stérilité absolue. C'est, en effet, ce que des épreuves directes vont nous apprendre. Avant d'entrer dans le détail de ces nouvelles observations, je dois insister sur la difficulté qu'on éprouve souvent à interpréter les faits d'ensemencement spontané des liquides organiques.

Gay-Lussac écrase des grains de raisin sous une cloche pleine de mercure, après les avoir lavés dans le gaz hydrogène afin de chasser l'air adhérent aux grains et aux parois de la cloche. La fermentation n'ayant pas encore eu lieu après plusieurs semaines d'attente, il fait arriver quelques bulles de gaz oxygène, et la fermentation se déclare les jours suivants. Gay-Lussac conclut « que la fermentation du moût de raisin ne peut commencer sans le secours du gaz oxygène (1) ».

Dans les conditions de son expérience rien de plus vrai, et il faut admirer la réserve que ce grand physicien apporte dans l'interprétation du fait qu'il vient d'observer; mais voici qu'un

---

(1) Gay-Lussac, *Annales de Chimie*, t. LXXVI, p. 245. Lu à l'Institut le 3 décembre 1810. Longtemps avant Gay-Lussac on avait remarqué que l'air atmosphérique avait une grande influence sur la fermentation. Voir dans le *Journal des Savants* les articles de M. Chevreul sur l'histoire de la Chimie.

autre physicien français, M. Cagniard-Latour, reconnaît que le ferment de la fermentation alcoolique est une petite plante cellulaire. D'où a-t-elle pu provenir, dans l'expérience de Gay-Lussac? Les partisans de la doctrine de la génération spontanée ne furent pas embarrassés et nous avons rappelé que MM. Trécul et Fremy, après beaucoup d'autres, n'ont pas hésité à prétendre que la petite plante est produite de toutes pièces par l'action de l'oxygène sur la matière albumineuse du suc du raisin; or, par les expériences que j'ai rappelées au paragraphe précédent, nous savons pertinemment qu'à la surface des grains de raisin existent communément des germes de la levûre du raisin et que, dès lors, l'expérience de Gay-Lussac a une explication plus simple et plus naturelle : le germe de la levûre est à la surface du grain et se mêle au suc du raisin quand on l'écrase; ce germe reste inerte en présence du gaz hydrogène; il végète dès que le gaz oxygène est introduit.

Les résultats de mon travail de 1862, sur les générations dites *spontanées*, nous apprennent que dans cette expérience de Gay-Lussac, le germe de la levûre pourrait avoir également pour origine, soit certaines poussières de la surface des parois de la cloche de verre, soit des poussières adhérentes au mercure, lequel renferme toujours des cellules desséchées de levûre dans un laboratoire où l'on fait des recherches sur la fermentation alcoolique. La nécessité du gaz oxygène pour la réussite de l'expérience peut surprendre quand on songe que la fermentation alcoolique s'accomplit souvent à l'abri du contact de l'air; mais nous prouverons expérimentalement que, nonobstant ce qui se passe dans la fermentation, le gaz oxygène a la plus grande influence sur la facilité de développement de la levûre, et que ce gaz est indispensable au rajeunissement de ses cellules vieillies et plus encore à la germination des cellules spéciales qu'on peut considérer comme le véritable germe de la petite plante.

C'est encore sur des interprétations erronées de certains faits relatifs aux ensemencements spontanés des infusions organiques que les partisans de la génération spontanée ont fondé la plupart des objections qu'ils opposent vainement à leurs contra-

dicteurs. Se rendant un compte très-inexact des conditions essentielles des phénomènes, ils veulent que la doctrine de la diffusion des germes des organismes microscopiques soit contrainte de placer en un point, pour ainsi dire, quelconque de l'espace, tous les germes des productions des infusions, ce qui, en effet, toucherait à l'absurdité. Ils croient ou feignent de croire, par exemple, qu'on est tenu d'admettre l'existence des germes de la levûre de raisin en tous lieux, en toute saison, aux bords des fleuves, comme sur les plus hautes montagnes, etc. « Les fermentations, disait un jour l'un d'eux devant l'Académie, ne peuvent pas être soumises au hasard des poussières atmosphériques. Comment se peut-il qu'il y ait partout des germes de levûre toujours prêts à tomber dans du moût de raisin? » Il est certain que des raisins qu'on écraserait en un lieu quelconque du globe, voire même sur un glacier, aux plus grandes hauteurs, pourraient entrer en fermentation. L'explication de cette prétendue impossibilité est des plus simples, puisque nous savons maintenant, par les faits exposés dans le paragraphe précédent, que les raisins portent sur leur pellicule les germes de leurs ferments.

Dans tous les travaux relatifs au genre de productions qui nous occupent, il faut tenir grand compte de l'influence des poussières répandues sur les objets qu'on manie. Très-souvent on rapporte aux germes formant poussière, c'est-à-dire qui sont en suspension dans l'air, ce qui doit être attribué à des germes adhérents aux vases et ustensiles servant aux expériences et dont l'origine peut être toute particulière. Dans mon Mémoire, déjà plusieurs fois cité, de 1862, j'ai fait voir qu'il était en quelque sorte impossible de déduire aucune conclusion sérieuse d'expériences faites sur la cuve à mercure, à cause des poussières organiques dont ce métal est constamment souillé, poussières qui, à l'insu de l'opérateur, passent dans l'intérieur des vases où elles vont provoquer des altérations qu'on est tenté de rapporter à l'hétérogénie.

On cite volontiers, dans tous les ouvrages classiques, une expérience d'Appert, reproduite par Gay-Lussac, qui, pour avoir

été mal interprétée, avait conduit à l'hypothèse de la continuité dans l'air atmosphérique, si l'on peut ainsi parler, de la cause de la fermentation (1).

Quand on transvase des bouteilles de moût de raisin conservé par la méthode d'Appert, toutes les nouvelles bouteilles ne tardent pas à entrer en fermentation : telle est l'expérience. S'il était prouvé que pendant son transvasement le moût n'a fait que toucher à de l'air atmosphérique, ce que croyait Gay-Lussac, on serait bien obligé d'admettre, dans la théorie des germes, que le moût a rencontré dans l'air des germes de levûre pendant qu'on le transvasait, et, s'il était vrai, d'autre part, que l'expérience pût réussir en un lieu quelconque, il faudrait en conclure que partout il existe des germes de levûre en suspension dans l'atmosphère.

« J'ai pris, dit Gay-Lussac, une bouteille de moût de raisin conservé depuis un an et parfaitement limpide, j'ai transvasé le moût dans une autre bouteille que j'ai bouchée exactement, et je l'ai exposé à une température de 15° à 30°. Huit jours après, le moût a perdu sa transparence; la fermentation s'y est établie, et bientôt il s'est trouvé changé en une liqueur vineuse, moussant comme le meilleur vin de Champagne. Une seconde bouteille de moût conservé depuis un an, comme le précédent, mais qui n'avait pas eu le contact de l'air, n'a présenté aucun indice de fermentation, quoique placé dans les circonstances les plus favorables pour la développer. »

Faite *grosso modo,* l'expérience réussit comme l'annonce Gay-Lussac : en d'autres termes, on peut tenir pour certain qu'une personne qui préparera, à l'époque des vendanges, des bouteilles de moût de raisin par la méthode d'Appert, et qui viendra ensuite les ouvrir et transvaser leur contenu dans d'autres bouteilles, ne tardera pas à voir le moût fermenter et déposer de la levûre; mais il n'est pas moins certain que les conséquences qu'on a déduites de cette célèbre expérience sont tout à fait

(1) Gay-Lussac, *Annales de Chimie*, t. LXXVI, p. 247. Mémoire cité; 1810.

controuvées, et que les germes de la levûre seront fort rarement empruntés aux poussières en suspension dans l'air que le moût aura traversé. Les germes dont il s'agit sont recueillis, suivant moi, le plus ordinairement, non dans l'air, mais sur les parois des bouteilles, sur les bouchons, sur les ficelles qui servent à les retenir, sur les tire-bouchons, etc., etc. C'est que, dans une pièce quelconque, cave, cellier, laboratoire, où l'on manipule des raisins, du moût de raisin, de la vendange, tous les ustensiles, à moins de précautions spéciales auxquelles certainement ni Appert, ni Gay-Lussac ne songaient, tous les vêtements, toutes les parois des bouteilles que les mains ont touchées, sont souillés par des cellules de levûre empruntées à des portions de moût fermenté, à des germes de la surface des grappes et des grains de raisin. Dès lors, au moment du transvasement du moût, mille circonstances accidentelles peuvent introduire de ces germes de levûre, dont la première origine, on le voit, appartient en définitive au raisin lui-même qui a servi à préparer le moût. En d'autres termes, je tiens pour erronée la conclusion que les germes de levûre qui font réussir l'expérience dont il s'agit soient pris aux poussières en suspension dans l'air même du lieu où l'on opère le transvasement du contenu des bouteilles.

Depuis que ces lignes sont écrites, j'ai voulu répéter cette expérience de Gay-Lussac, de façon à confirmer ce que je viens d'en dire et dans des conditions comparatives propres à la faire réussir ou échouer, à coup sûr, selon les circonstances de la manipulation employée.

Le 7 décembre 1874, j'ai pris deux bouteilles de moût de raisin conservé par la méthode d'Appert, dans mon laboratoire, depuis le commencement d'octobre 1873, l'une et l'autre couvertes de poussières, des poussières qui voltigent dans ce laboratoire. Je les ai transvasées comme il suit : l'une a été maniée sans précautions particulières, débouchée avec un tire-bouchon ordinaire, puis son contenu versé dans une autre bouteille bien lavée, comme on lave les bouteilles quand on doit les faire servir ultérieurement ; elle avait été prise au milieu d'une foule d'autres renversées depuis quinze jours sur un égouttoir. Nulle précaution

pour enlever la poussière qui recouvrait les parois extérieures de la bouteille de moût, nulle précaution pour purifier la bouteille lavée. La seconde bouteille de moût a été, au contraire, transvasée après qu'on eut enlevé la poussière dont elle était chargée, qu'on eut coupé son bouchon au ras de la cordeline, et qu'on eut passé dans la flamme d'une lampe à alcool la cordeline et la surface du bouchon; enfin le tire-bouchon fut également passé dans la flamme. Quant à la bouteille qui devait recevoir son contenu, elle fut mise un instant dans un bain-marie à 100° et refroidie, renversée en plein air, dans un jardin. Alors seulement on la releva pour y faire passer immédiatement le moût de la seconde bouteille.

Eh bien, la première bouteille a montré des productions au niveau de son liquide et au fond, dans la gouttière, dès les premiers jours après l'opération et, en outre, les premiers indices de la fermentation alcoolique dès le 16 décembre. Quant à l'autre bouteille, elle est encore parfaitement intacte, après plusieurs mois d'exposition dans une étuve.

Quoi de plus probant que ces faits et combien ne sont-ils pas d'accord avec les considérations que j'ai fait valoir tout à l'heure et les principes que je soutiens depuis près de vingt années au sujet des causes des altérations des liquides organiques?

Est-ce donc à dire que, dans l'air atmosphérique, il n'y ait pas de germes de levûre en suspension formant poussière? Sans nul doute, il en existe également sous cet état; mais ils sont relativement peu nombreux, généralement du moins, car leur abondance ou leur rareté est également en rapport avec les circonstances qui peuvent en multiplier ou en restreindre la quantité, ainsi que nous allons en avoir la preuve.

Le 2 mai 1873, on débouche deux bouteilles ordinaires pleines de moût de bière, préparées depuis le mois de décembre 1872, par la méthode d'Appert. Afin d'éviter les causes d'erreur dont je viens de parler, on procède, comme il suit, au débouchage des bouteilles : le bouchon est rasé au niveau du goulot; on passe dans la flamme la cordeline et le bouchon sans

crainte de brûler et de carboniser celui-ci; enfin on retire doucement le bouchon avec un tire-bouchon passé dans la flamme.

Les bouteilles ainsi préparées sont déposées sur la table d'un sous-sol où s'effectuent constamment des opérations sur la fermentation alcoolique.

Première bouteille. — Le 7 mai, îlots de moisissure à la surface du liquide et au fond gros flocons de mycéliums.

Le 11 mai, un voile de *mycoderma vini* s'est, en outre, formé; pas de fermentation.

Le 13 mai, fermentation active qui continue jusqu'au 23 mai. Le microscope accuse de la levûre en globules de deux grosseurs, les plus gros bien moins nombreux que les autres. Absence de ferment lactique et butyrique.

Deuxième bouteille. — Le 7 mai, îlots de moisissure à la surface du liquide et voile de *mycoderma vini*. Les 11, 13,..., 23 mai, pas encore de fermentation. Le 30 mai, la fermentation est active. La levûre se montre au microscope mêlée de vibrions butyriques.

Dans cet exemple, des levûres alcooliques ont pris naissance, et, par les précautions dont on s'est entouré au moment de mettre le liquide des bouteilles en communication avec l'air extérieur, il est certain que les germes de ces levûres, ainsi que ceux des autres organismes qui ont apparu, moisissures, *mycoderma vini*, vibrions, ne peuvent être attribués qu'à la chute de poussières flottant dans l'air de la salle. Il y a donc des circonstances où l'on trouve des germes de levûre alcoolique en suspension dans l'air; mais nous allons reconnaître aisément que les conditions particulières de local ont été pour beaucoup dans les résultats de l'expérience précédente.

Le même jour, 2 mai 1873, on a débouché, avec les précautions susdites, quatre autres bouteilles du même moût : elles sont placées dans une salle moins souvent habitée que la précédente et où se pratiquent rarement des manipulations relatives aux fermentations.

Première bouteille. — Le 8 mai, à la surface du liquide, gros

mycélium spumeux de *mucor mucedo* ou de *mucor racemosus*. Liquide limpide (1).

Le 30 mai, pas encore de fermentation proprement dite.

Deuxième bouteille. — Le 8 mai, voile mince d'aspect gras; odeur aigre, liquide trouble. Le microscope montre que ce voile est formé par du *mycoderma aceti*. Le 30 mai, le voile est blafard et paraît mort. Il porte une tache verte de *Penicillium glaucum*. Pas de fermentation.

Troisième bouteille. — Le 8 mai, îlots de moisissure à la surface du liquide. Le 30 mai, moisissure épaisse et abondante; pas encore de fermentation.

Quatrième bouteille. — Le 8 mai, petits îlots de moisissure et voile de *mycoderma vini*. Le 30 mai, pas encore de fermentation.

Jusqu'au mois d'août 1873 aucune de ces bouteilles n'a donné la moindre apparence de fermentation alcoolique ou autre.

Le 16 décembre 1872, on débouche quatre bouteilles de moût de bière, également conservées par la méthode d'Appert, que l'on place, vers 25°, dans une étuve où il y a en permanence des vases en fermentation, mais où ne se font pas les manipulations qu'exige la mise en train ou l'étude finale de ces fermentations. Les jours suivants apparition de moisissure avec absence de fermentation, et cet état de choses dure pendant cinq mois, après lesquels on a mis fin aux observations.

Le 26 mai 1873, on débouche, toujours avec les soins indiqués précédemment, dix bouteilles de moût de bière conservées depuis le 9 avril, puis on les abandonne dans une salle où l'on travaille constamment à des études sur les fermentations.

Les jours suivants des îlots de moisissure apparaissent à la surface des liquides.

(1) Les moisissures proprement dites, il est bon de le remarquer, amènent promptement la limpidité dans le moût de bière. On pourrait dire que par leur développement elles *collent* le moût qui sert à les nourrir.

Le 30 mai, commencement de fermentation dans une des bouteilles.

Le 31, une deuxième bouteille commence également à fermenter.

Le 9 juin, quatre bouteilles, y compris les deux précédentes, sont en fermentation. On coiffe avec du papier pris au centre d'une rame de papier et flambé les six bouteilles qui ne fermentent pas encore. Les jours suivants et jusqu'au 1er août, jour où cessent les observations, ces six bouteilles n'ont pas fermenté.

On voit par ces exemples, confirmés par beaucoup d'autres, que j'aurai l'occasion de mentionner dans cet Ouvrage, que les germes de levûre alcoolique ne sont pas présents en tous les points de l'espace, toujours prêts à tomber sur tous les objets et qu'il peut en être ainsi dans les lieux mêmes où l'on manie à chaque instant ce genre de production (1). Quand on opère rigoureusement, on reconnaît bien vite que tout ce qui a été écrit sur la facilité de faire entrer en fermentation des moûts sucrés par une rapide exposition à l'air ambiant est exagéré.

Les germes des ferments, surtout des levûres alcooliques, levûre de raisin, levûre de bière... ne sont pas même, à beaucoup près, aussi fréquents dans l'air atmosphérique ou dans les poussières de la surface des objets que le sont les spores des moisissures; ce qui se comprend aisément, puisque les spores sont généralement des organes aériens à l'état sec que le moindre souffle soulève et emporte, tandis que les levûres sont formées de cellules humides d'une dessiccation difficile.

Les ballons vides d'air, en partie pleins de liquides organiques, qu'on ouvre et qu'on referme aussitôt, donnent fréquemment

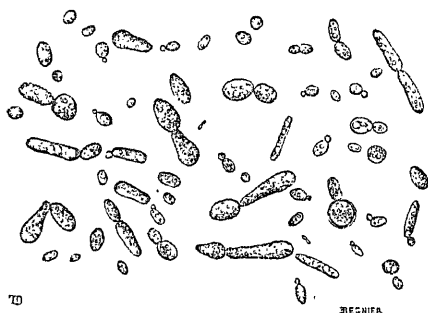
---

(1) Dans mon Mémoire sur les générations spontanées, j'ai déjà fait observer qu'en semant dans des moûts sucrés, au contact de beaucoup d'air, des bourres de coton ou d'asbeste chargées des poussières en suspension dans l'air, on n'obtenait pas la fermentation alcoolique. L'air qui fournissait les poussières était, dans les expériences auxquelles je fais allusion, pris au dehors du laboratoire dans la rue avoisinante.

des moisissures et très-rarement la fermentation alcoolique, quoique, sous ce dernier rapport, ils ne soient point d'une stérilité absolue, ce dont je tiens à citer des preuves.

Le 19 juin 1872, on prépare sept ballons d'eau de levûre sucrée. Ballons de 300^{cc} de capacité, contenant 100^{cc} de liquide, à col effilé et qu'on a fermés pendant l'ébullition après que la vapeur a chassé l'air intérieur.

Le 29 juin, on les ouvre dans la pièce principale de mon laboratoire. Le 9 juillet, deux de ces sept ballons n'ont pas

Fig. 10.

donné de productions organisées, les autres renferment soit des mycéliums, submergés ou fructifiant à la surface du liquide, soit des bactéries associées ou non à des flocons de mycéliums; deux autres montrent des traînées blanches au fond de leurs liquides, ce qui annonce la présence d'une levûre alcoolique ou le plus souvent d'une petite plante cellulaire de même forme, mais purement aérobie, c'est-à-dire impropre à la fermentation. Après quelques jours on voit des bulles de gaz s'élever du fond d'un de ces ballons. La fermentation oblige bientôt de l'ouvrir pour en éviter la rupture. Voici le dessin de sa levûre (*fig.* 10).

L'autre ballon à traînées blanches n'a donné lieu à aucune fermentation.

Par ce genre d'observation on réussit rarement à obtenir des levûres fécondes : c'est qu'on opère sur des volumes d'air trop

restreints pour le peu d'abondance des germes de levûre en suspension dans l'air.

Le succès est plus certain quand on expose des liquides sucrés à l'air libre en assez grande surface, parce que, dans ces circonstances, même pour une exposition de peu de durée, un volume d'air considérable passe à la surface du liquide.

Le 29 mai 1873, à 5 heures du soir, on place dans le sous-sol dont il a été question plus haut, à une hauteur de 50^c, dix cuvettes en porcelaine d'une surface de 250^{cq} à 300^{cq}. On vient de les sortir de l'eau bouillante. Dans chacune d'elles, après le refroidissement, on dépose en couches de 1^c environ d'épaisseur du moût de bière sortant de bouteilles débouchées avec les précautions voulues pour qu'il ne puisse arriver au contact du moût que des poussières flottantes. Le 30, à 5 heures, c'est-à-dire après vingt-quatre heures d'exposition à l'air de la pièce, on verse le contenu des cuvettes séparément dans des ballons de verre à long col sortant de l'eau bouillante et qu'on a fait refroidir le goulot renversé. L'angle extérieur de la cuvette par où l'on verse le liquide et l'entonnoir (lequel entonnoir doit différer pour chaque ballon) viennent d'être passés dans la flamme. Ces dix ballons sont portés dans une étuve à 25° (1).

Le 1er juin, déjà six des ballons donnent des signes de fermentation.

Le 2 juin, tous les ballons fermentent.

Voici quelques-unes des nombreuses observations microscopiques faites sur les liquides et leurs dépôts.

Le 1er juin, un des six ballons qui commencent à fermenter offre à la surface du liquide un voile continu de *mycoderma vini* recouvrant un lacis de tubes d'un mycélium d'une autre moisissure. Ni dans le liquide ni dans le dépôt on n'aperçoit de cellules de levûre de bière; mais le champ est rempli de vibrions butyriques agiles, un peu gros et courts, d'une longueur double

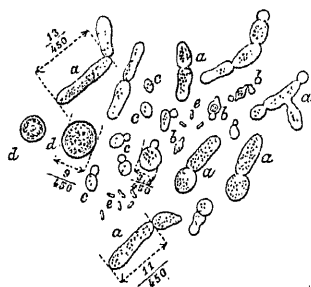
---

(1) Le transvasement dans des ballons est nécessaire, parce que dans les cuvettes la fermentation pourrait être masquée. *Voir* plus loin la note de la page 74.

environ de leur diamètre. La fermentation est exclusivement une fermentation butyrique.

Le 2 juin, un autre des ballons en fermentation ne montre pas de vibrions, mais de la levûre alcoolique en petite quantité, beaucoup de levûre lactique en petits articles étranglés, immobiles et enfin des filaments grêles, pareils à ceux de la *Pl. I*, nos 1 et 2.

Le 3 juin, j'examine le liquide du ballon dont la fermentation est la plus active. Outre des flocons de moisissures arrêtées dans

Fig. 11.

leur développement par privation d'air, on trouve au moins cinq productions différentes que représente le dessin ci-joint (*fig.* 11).

aaa... Grosses cellules de levûre alcoolique dont les dimensions sont indiquées sur le dessin. Ainsi $\frac{13}{450}$ indiquent que l'article correspondant a une longueur de $\frac{13}{450}$ de millimètre, etc.;

bbb.... Petite levûre alcoolique qu'on voit apparaître habituellement dans le moût des fruits acides et sucrés, dans le moût de raisin filtré notamment. Ses dimensions étaient ici de 1 à 1 $\frac{1}{2}$ ou $\frac{2}{450}$ de millimètre (1);

(1) Cette petite levûre est fort curieuse, quoique sans grand intérêt pour les fermentations industrielles. Je l'ai figurée pour la première fois en 1862. (PASTEUR, *Bulletin de la Société chimique*, 1862, page 67 et suivantes : *Quelques faits nouveaux au sujet des levûres alcooliques*.) — Elle a été ensuite décrite par le Dr Rees, sous

ccc... Levûre basse pareille à celle des appareils qui étaient en fermentation dans la pièce;

ddd... Spores grossies, gonflées, de *mucor racemosus*. Elles sont rares et d'aspect vieux. Nous les retrouverons avec leur vraie signification dans un des Chapitres suivants;

eee... Vibrions courts, étranglés ou non vers le milieu, de l'une et de l'autre forme; il en est d'immobiles et d'autres qui vont, viennent, se balancent, etc... Ces formes doivent être rapportées aux levûres butyriques et lactiques de la *Pl. I*.

La série des essais qui précèdent nous montre que, dans du moût de bière exposé à l'air, les poussières en suspension laissent tomber simultanément des germes de productions diverses parmi lesquelles se trouvent des levûres variées, butyriques, alcooliques, lactiques. Notons, toutefois, qu'il s'agit ici de l'air d'un laboratoire livré à des études incessantes sur des fermentations analogues. Une autre atmosphère donnerait le plus souvent des résultats différents. Nous en aurons la preuve au paragraphe suivant, où nous trouverons, en outre, de nouveaux faits propres à établir que les germes de levûre alcoolique ne sont pas aussi fréquents qu'on se l'imagine parmi les poussières qui sont en suspension dans l'atmosphère.

§ V. — Nouvelles études comparatives sur les germes en suspension dans l'air de divers lieux, voisins, mais assujettis a des conditions différentes de production et de diffusion des poussières qu'on y rencontre.

On peut comparer la nature et l'abondance plus ou moins

---

le nom de *Saccharomyces apiculatus*. (Dr Rees, Leipzig, 1870 : *Sur les champignons de fermentation alcoolique*. Voir également Dr Engel, *Thèse pour le Doctorat*. Paris, 1872.) Quand on filtre avec soin, à l'époque des vendanges, du moût de raisin, on peut être assuré de la voir apparaître dans le liquide clair, sur le fond du vase, sans mélange d'autre levûre.

Si le moût n'est pas filtré, elle y apparaît également, mais bientôt associée à une autre levûre plus grosse et plus allongée, qui est également une des levûres propres à la fermentation du moût de raisin.

grandes des mêmes germes dans des localités voisines, en étudiant l'altération d'un même liquide exposé simultanément à l'action de l'air de ces localités. A cet effet, on prépare un grand nombre de ballons de même capacité, vides d'air et contenant des volumes sensiblement égaux de tel ou tel liquide, le même pour tous. On ouvre un égal nombre de ces ballons dans chacune des localités dont il s'agit, l'air extérieur y pénètre avec toutes ses poussières, puis on referme les ballons et l'on suit, jour par jour, les apparences qu'ils présentent. Les conséquences des résultats fournis par cette méthode ne sauraient s'appliquer à toutes les sortes de germes que l'air peut renfermer à un moment donné, mais seulement à ceux dont le développement est possible pour la nature du liquide employé : par exemple, on ne pourrait tirer aucune conclusion touchant la nature et le nombre relatif des bactéries ou des vibrions par l'emploi d'un liquide acide. Pour cette sorte d'organismes, il faudrait avoir recours à des infusions neutres ou légèrement alcalines. Les liquides à réaction faiblement acide conviendraient au contraire à des études comparatives sur les mucédinées, les mycodermes, sur certaines levûres, les levûres alcooliques par exemple.

Le 26 novembre 1872, on a ouvert et refermé trente ballons contenant du moût de raisin conservé depuis la dernière récolte :

Dix au fond du jardin de l'École Normale;

Dix sur le palier des appartements du deuxième étage ;

Dix dans la salle principale de mon laboratoire dont les poussières du plancher avaient été soulevées et agitées peu de temps auparavant par le balayage de la pièce.

Des productions diverses apparurent les jours suivants dans un certain nombre de ces trente ballons. A partir du 17 décembre, les choses restèrent stationnaires. Voici les observations à cette date :

Des dix ballons du fond du jardin, un seul est altéré.

Des dix ballons de l'intérieur de l'École, quatre sont altérés.

Des dix ballons du laboratoire, dix sont altérés.

La différence était donc considérable entre le nombre des germes en suspension dans les trois endroits choisis pour les prises d'air.

La nature des germes n'était pas moins dissemblable; car les ballons altérés des deux premières catégories n'offraient pas trace de torulas et seulement des moisissures, tandis que trois sur dix de la troisième catégorie en contenaient associées à des moisissures (1).

Le 29 mai 1873, on porte, dans une des pièces de l'appartement que j'habite à l'École Normale, dix-huit ballons de moût de raisin, vides d'air, à col étiré. On lance un jet de flamme de gaz d'éclairage sur toutes les parois qui ne touchent pas au liquide, afin de brûler les poussières que ces parois auraient pu rapporter du laboratoire; puis on brise les pointes de ces ballons avec des ciseaux ordinaires qu'on a passés dans la flamme d'une lampe à alcool; enfin on décalotte ces mêmes ballons à une petite distance du niveau du liquide, ce qui transforme les dix-huit ballons en dix-huit cuvettes contenant chacune environ 100^{cc} de moût de raisin. Ces dix-huit cuvettes sont déposées ensuite sur une table du salon de l'appartement, où on les laisse pendant cinq jours en s'astreignant à ne pas entrer dans la pièce.

Le 2 juin, on examine les cuvettes : toutes contiennent de petits flocons de mycéliums flottants, mais aucune d'elles ne montre de traînées blanches sur les parois, ce qui prouve qu'elles sont dépourvues de torulas; le liquide est demeuré très-limpide. Avec le contenu de neuf des cuvettes, on remplit deux ballons à long col convenablement préparés, c'est-à-dire chauffés suffisamment, un peu avant le moment de s'en servir, pour qu'ils ne puissent porter sur leurs parois des germes étran-

(1) Je rappellerai qu'en 1862, dans mon *Mémoire sur les générations dites spontanées*, j'ai appliqué l'expression de *torula* à toutes les petites plantes cellulaires spontanées, sans mycélium, qui se multiplient par bourgeonnement à la manière de la levûre de bière, et qu'à cette époque j'ai insisté sur la fréquence de leurs germes, particulièrement dans mon laboratoire où déjà se faisaient des études sur les fermentations. La *Pl. III* représente deux d'entre elles; on dirait des levûres.

gers venant du laboratoire. Jusqu'au 10 juillet, jour où l'on a jugé qu'il était inutile de les suivre plus longtemps, ces ballons n'ont pas donné de signe de fermentation. Avec les neuf autres cuvettes, on a également rempli deux ballons à long col, mais après avoir fait séjourner ces cuvettes pendant vingt-quatre heures dans le sous-sol de mon laboratoire, du 2 au 3 juin. Ces deux derniers ballons ont donné promptement une fermentation active avec un abondant dépôt de levûre, nouvelle preuve de la grande différence de nature des germes en suspension dans mon appartement et dans mon laboratoire.

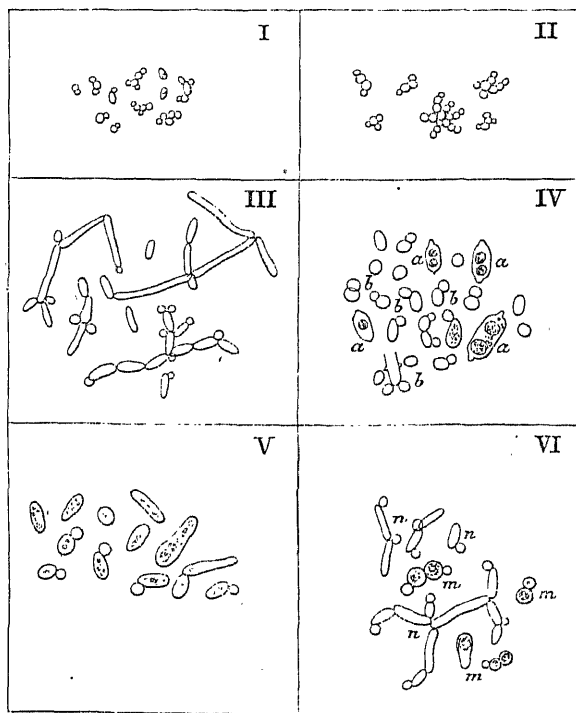
Le 3 juin, on expose simultanément sept cuvettes, préparées comme il a été dit tout à l'heure dans le salon précité et sept autres au laboratoire. Le 8 juin, les cuvettes du salon montrent toutes des moisissures mais pas du tout de *mycoderma vini*, ni de traînées de torulas, tandis que six sur sept, au laboratoire, ont leurs parois couvertes d'un précipité blanc, sous une couche d'îlots de moisissure à la surface du liquide. Le liquide de ces dernières cuvettes, mis en grande épaisseur dans un ballon à long col, a commencé à manifester la fermentation alcoolique après quarante-huit heures (1). C'est une autre preuve frappante

---

(1) Le lecteur fera la remarque qu'ici, comme au § IV, page 69, pour rechercher la présence possible d'une levûre alcoolique parmi les productions des cuvettes, on a réuni les liquides de celles-ci dans un ballon à long col. Dans un liquide exposé en large surface à un ensemencement spontané, la fermentation alcoolique, quoique existante, peut échapper complétement à l'observation. En grande surface, sous une faible épaisseur, au contact de l'air, les moisissures se développent très-vite et abondamment; elles prennent l'oxygène qui tendrait à se dissoudre dans le liquide, retardant par conséquent la multiplication de la levûre et pouvant même l'empêcher de germer. Nous verrons, en effet, que les cellules de levûre et, à plus forte raison, ce qu'on peut appeler leurs germes (les faits du Chapitre V donneront l'explication de la différence de ces mots, *germes* de levûre et *cellules* de levûre), ont d'autant plus besoin d'oxygène pour se rajeunir et se multiplier, que ces cellules sont plus vieilles, plus épuisées par la dessiccation, moins voisines d'un bourgeonnement récent. Si donc des spores de moisissures sont présentes et se développent, elles mettent obstacle à la multiplication de la levûre, sinon à sa germination. Réunir dans un vase profond, avec une surface de niveau très-petite comme dans un ballon à long col, des liquides qui ont été ensemencés spontanément, c'est priver d'air à peu près complétement les moisissures et placer, au contraire, la levûre dans des conditions où elle peut agir comme

de la différence relative du nombre des germes de levûre et de torulacées dans l'air de mon laboratoire et dans celui d'un appartement ordinaire.

Voici les dessins des torulas des six cuvettes du labora-

Fig. 12.

toire : ces productions sont représentées par les dessins I, II, III, IV, V, VI de la *fig.* 12. On voit par là combien sont abon-

ferment. Le simple transvasement du liquide lui donne une proportion d'oxygène suffisante. Dès lors elle manifeste bientôt son action par un dégagement gazeux. Ajoutons à cela qu'en grande surface et sous une faible épaisseur un liquide où il y a peu de levûre formée peut dégager par diffusion l'acide carbonique, au fur et à mesure qu'il se forme, de manière à dissimuler la fermentation.

dants dans mon laboratoire les germes de ces sortes de productions. Sans nul doute, cela tient à la nature des travaux qu'on y exécute, jointe aussi à la résistance propre de ces germes ou des cellules végétatives de ces petites plantes, résistance qui leur permet de se dessécher et de former poussière sans perdre leur faculté de reproduction. Il ne faudrait pas croire d'ailleurs que ces formes variées des figures précédentes, d'autant plus variées même que dans les *fig.* IV et VI elles ne sont pas d'une seule sorte, car les cellules *a*, *a*...; *b*, *b*...; *m*, *m*...; *n*, *n*,... forment quatre variétés, il ne faudrait pas croire, dis-je, que toutes ces formes correspondent nécessairement à des espèces distinctes. Que de l'extrémité d'un article très-allongé, pareil à ceux du n° III, se détache une cellule sphérique très-petite, celle-ci pourra engendrer une succession de petites cellules sphériques bourgeonnantes, qui reproduiront dès lors les formes des n^os^ I et II.

La production n° III est une des formes du *mycoderma vini,* qu'on trouve, en effet, souvent à cet état rameux, arborescent; mais le *mycoderma vini* est aussi fréquemment en articles courts, et c'est ainsi qu'on le voit d'ordinaire à la surface des vins.

La nature du substratum est pour beaucoup dans les changements d'aspect des organismes dont nous parlons; mais ce n'est pas la seule cause de leurs modifications morphologiques. Je suis très-porté à croire que chacune des cellules ou articles végétatifs de toutes ces productions aux aspects si divers, qui prennent naissance spontanément, avec certains liquides appropriés, dans un laboratoire où l'on se livre à des recherches sur les fermentations, sont capables de fournir autant de variétés distinctes. En effet, il n'y a pas une seule de ces cellules des n^os^ I à VI, *fig.* 12 dont nous parlons, qui, prise isolément, n'ait ses caractères propres que, par hérédité, elle doit transmettre plus ou moins à tous les individus de ses générations successives.

Remarquons, d'autre part, que rien n'est plus favorable à l'isolement de variétés diverses de torulas ou de *mycoderma vini* que les ensemencements spontanés auxquels nous soumettons nos liquides. En saisissant des poussières dans l'atmosphère à l'aide

de ballons contenant un liquide nutritif, mais vides d'air, qu'on ouvre et qu'on referme aussitôt, on doit le plus souvent faire pénétrer dans les ballons un seul germe fécond, une seule cellule végétative et créer ainsi des générations issues d'une cellule-mère unique. Si l'on allait prendre, dans une foule composée d'hommes et de femmes, des couples séparés qu'on transporterait ensuite chacun isolément dans des îles désertes, ils y formeraient sans nul doute autant de peuplades distinctes.

Il est très-remarquable que toutes ces torulas de la *fig.* 12 ne sont pas des ferments; pas plus que le *mycoderma vini,* elles ne donnent lieu à la décomposition du sucre en alcool et en acide carbonique, et pourtant la similitude d'aspect, de développement, de formes, de volumes, peut être absolue entre les levûres alcooliques proprement dites et ces torulacées.

Je dois en citer un exemple probant. Le 28 mai 1872, dans une des salles de mon laboratoire, je brise les pointes effilées d'une série de ballons à moût de raisin, pareils aux précédents et vides d'air. On referme les pointes aussitôt après la rentrée brusque de l'air extérieur. Un des ballons n'a donné lieu qu'à une seule production organisée, laquelle était une de nos torulas. Le 7 juin, elle est assez abondante pour recouvrir toutes les parois d'un précipité blanc. A la surface du liquide, on ne voit pas de *mycoderma vini* proprement dit. Afin d'être plus sûr qu'on a bien affaire à une torula unique sans mélange d'autres moisissures, on attend jusqu'au 14 juin. Les choses restent dans le même état. Ce jour on ouvre le ballon, il ne sort pas de gaz annonçant une pression intérieure plus forte qu'à l'extérieur. La plante observée au microscope est bien homogène et formée

Fig. 13.

d'un amas de cellules, absolument identiques d'aspect et de volume à des cellules vieilles de levûre ordinaire (*fig.* 13).

On distille une première fois tout le liquide, dont le volume est de 100 centimètres cubes : rien n'annonce la présence de l'alcool; on recueille 33^{cc} de liquide qu'on distille de nouveau, on soumet une troisième fois à la distillation. Pas plus que dans la première distillation, on ne constate la présence de l'alcool (1).

On peut affirmer que notre torula, en se développant dans le moût de raisin sous un poids qui aurait été très-appréciable, n'a pas produit, en correspondance avec les actes nutritifs de sa multiplication, $\frac{1}{10000}$ de centimètre cube d'alcool.

Les choses se sont passées un peu différemment dans les conditions suivantes ; néanmoins elles confirment le résultat qui précède.

Le 5 juillet 1872, on a ouvert et refermé douze ballons pareils aux précédents, avec cette seule différence qu'ils contenaient de l'eau de levûre sucrée à 10 pour 100 de sucre. L'un d'entre eux fournit également une torula unique ayant la plus grande ressemblance avec la levûre de bière. Au moment où cette torula commence à recouvrir tout le fond du liquide, j'agite celui-ci et je renverse le ballon verticalement, afin de submerger la torula et la priver d'air au moins dans la partie la plus inférieure du goulot. Les jours et les mois suivants, nulle apparence de dé-

(1) Il s'agit ici de la recherche des plus minimes quantités d'alcool pour lesquelles l'alcoomètre serait tout à fait insuffisant. Un signe certain de la présence de l'alcool est donné par l'aspect des premières portions de liquide condensé qui passent à la distillation. Elles se résolvent toujours sous la forme de gouttelettes ou stries, ou mieux encore de larmes d'aspect huileux toutes les fois qu'il existe de l'alcool dans le liquide distillé. La distillation doit se faire dans une petite cornue à col assez long, engagé dans le tube d'un réfrigérant de Liebig. On porte toute son attention sur les parois du col de la cornue au moment où l'ébullition commence. Pour peu qu'il y ait dans le liquide un millième de son volume d'alcool, le caractère indiqué de larmes ou de stries se dessine nettement pendant un temps très-court, mais pourtant appréciable. Un dix-millième d'alcool est difficile à constater; pourtant, en y apportant soin et exercice, on peut encore y arriver sans incertitude.

En recueillant à chaque distillation le tiers du volume total et en supposant que la limite d'appréciation s'arrête aux millièmes, on peut accuser facilement, après trois distillations, la présence de $\frac{1}{10000}$ de 1^{cc} d'alcool pour un volume total de 100^{cc}.

gagement de gaz. Le 22 juillet 1873, après un intervalle d'une année, on ouvre le ballon qui n'accuse aucune pression intérieure sensible; on recherche la présence de l'alcool dans le liquide par distillations successives, comme il vient d'être dit. Dans les deux premières distillations, l'alcool paraît absent; mais à la troisième on reconnaît qu'il existe en très-petite quantité. Nous verrons plus tard qu'il faut attribuer la formation de cette petite quantité d'alcool au fait de la submersion de la plante, alors qu'elle était en plein développement, et à ce que sa vie a dû continuer quelque temps encore après la submersion hors de l'influence du gaz oxygène de l'air du ballon.

De tout ce qui précède il résulte qu'il existe des productions d'aspect varié dont les germes sont particulièrement abondants parmi les poussières d'un laboratoire où l'on étudie les phénomènes de fermentation, productions aérobies par excellence, dépourvues du caractère ferment, quoiqu'il soit impossible de distinguer par le microscope leurs formes de celles des levûres alcooliques.

L'idée d'un lien physiologique entre ces plantes et les levûres qui leur ressemblent, à un si haut degré, s'impose avec force et pour ainsi dire d'instinct à l'esprit. On en peut dire autant du *mycoderma vini* proprement dit, comparé aux levûres alcooliques. Le *mycoderma vini* ne paraît différer d'ailleurs des torulas dont il s'agit que par une structure physique particulière, et par un certain état graisseux de ses articles qui lui permet de vivre sous forme de voile à la surface des liquides, c'est-à-dire non submergé (1).

Malgré de nombreuses tentatives, je n'ai pu voir se réaliser le passage dont je parle, c'est-à-dire la transformation de ces torulas ou du *mycoderma vini* en levûres alcooliques. En

---

(1) Il se pourrait que cet état graisseux des cellules du *mycoderma vini* ordinaire provînt simplement de la composition du liquide sur lequel il végète. Ce sont les liquides sucrés qui offrent des *torulas* submergés, tandis que les liquides fermentés donnent plus volontiers naissance aux *torulas* et au *mycoderma vini* sous forme de voile; mais au fond ces deux sortes de petites plantes cellulaires aérobies, *torulas* et *mycoderma vini*, sont très-probablement identiques.

d'autres termes, je n'ai pas réussi à donner aux torulas ou au *mycoderma vini*, si semblables de formes aux levûres alcooliques, le caractère ferment permanent, qui est propre à ces dernières. A une certaine époque de mes recherches, en 1862, et plus récemment en 1872, j'avais cru trouver les conditions de cette transformation, mais, dans un Chapitre subséquent, j'expliquerai que mes expériences étaient alors entachées de causes d'erreurs que je n'avais pas su découvrir.

§ VI. — La levure peut se dessécher et être réduite en poussière sans perdre sa faculté de reproduction.

Dans les paragraphes qui précèdent, nous avons eu des exemples d'ensemencements spontanés de levûres alcooliques. Je vais montrer que cette petite plante cellulaire peut, en effet, exister à l'état fécond sous forme de poussière, en suspension dans l'air, à la manière des spores des moisissures et des kystes de certains infusoires.

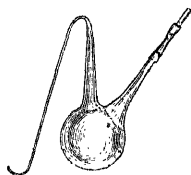
Le 16 décembre 1872, on rassemble et l'on soumet à la presse tout le dépôt de levûre d'un appareil à bière d'un hectolitre de capacité. Vers la partie centrale du gâteau de levûre, on prélève de celle-ci quelques grammes qu'on mélange avec cinq fois leur poids de plâtre dans un mortier de porcelaine : le mortier venait d'être chauffé, ainsi que le plâtre, dans une étuve à huile vers 200°, puis refroidi rapidement. La poudre ainsi préparée a été renfermée aussitôt dans un cornet dont le papier venait d'être flambé dans la flamme d'une lampe à alcool. Le cornet et son contenu ont ensuite été déposés dans une étuve, de 20 à 25°. Les diverses précautions que nous venons d'indiquer avaient eu pour but d'éloigner de la poudre de plâtre et de levûre, sinon les germes des poussières en suspension dans l'air, du moins ceux des poussières répandues à la surface des objets, mortier, plâtre, papier.

Le 18 décembre, on prélève, avec une petite spatule de platine qu'on vient de passer dans la flamme, une pincée de la poudre de plâtre et de levûre, et on la dépose comme semence dans

un ballon à deux cols (*fig.* 14) contenant du moût de bière pur. Le ballon est porté à l'étuve à 20°.

Le 21 décembre, trois jours après l'ensemencement, la fermentation commence à s'accuser par des îlots de mousse à la surface du moût. Le 19 et le 20, développement sensible de la levûre, quoique la fermentation ne soit pas encore accusée par un dégagement de gaz. La levûre paraît très-pure au microscope.

Le 5 mars 1873, on prélève de nouveau, dans le cornet de papier, une pincée de la poudre de plâtre et de levûre, et on la dépose dans un ballon de moût de bière pur, pareil au précédent.

Fig. 14.

Le 9 mars, c'est-à-dire après quatre jours d'exposition à l'étuve à 20°, la fermentation commence à s'accuser par des îlots de mousse à la surface du moût; la levûre n'était donc pas encore morte, mais seulement retardée dans son rajeunissement.

Le 25 juillet 1873, c'est-à-dire après sept mois et demi, je recommence l'épreuve de l'ensemencement de la poudre de levûre et de plâtre dans un nouveau ballon de moût de bière; le 2 août, par conséquent huit jours après l'ensemencement, de petits îlots de mousse se montrent à la surface du liquide. Observée au microscope, la levûre est toujours pure et pareille à la levûre primitive; la figure ci-contre (*fig.* 15) donne une idée de sa forme.

Le 7 novembre 1873, nouvel ensemencement de notre poussière de plâtre et de levûre; cette fois la levûre est morte : on a suivi jour par jour le nouveau ballon jusqu'au premier février 1874, sans qu'il ait offert le moindre signe de fermentation et de développement de la levûre semée. Un examen microsco-

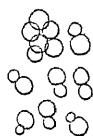
pique, qui a eu lieu ce jour-là, a montré la levûre mêlée au plâtre, absolument inerte au fond du liquide sucré ; ses cellules étaient isolées, très-vieilles, très-granuleuses, et rien n'annonçait la possibilité d'un bourgeonnement quelconque.

La levûre du vin peut donc être desséchée aux températures ordinaires de l'atmosphère, et conserver, sous forme de poussière, sa faculté de reproduction pendant sept mois et plus. Celle-ci va toutefois en diminuant avec le temps, puisqu'au bout

Fig. 15.

de sept mois et demi, toutes choses égales d'ailleurs, la levûre desséchée n'a été assez développée pour accuser la fermentation qu'au bout de huit jours, tandis que, dans les premiers temps de sa dessiccation, il ne lui avait fallu que trois et quatre jours.

Parallèlement à ces essais sur la levûre du vin, j'en avais in-

Fig. 16.

stitué de tout à fait semblables avec la levûre dite *à fermentation haute* des brasseries. La poudre de plâtre et de cette levûre avait été préparée également le 16 décembre 1872. Le dernier ensemencement a eu lieu, le 25 juillet 1873, dans un ballon de moût de bière pur, qui manifesta des signes de fermentation dès le 27 juillet. Le dessin ci-dessus (*fig.* 16) donne l'aspect général des formes de cette levûre haute rajeunie après un si

long temps ; elle avait, en outre, conservé le caractère habituel des cellules de levûre haute.

Les faits que je viens d'exposer ne peuvent laisser aucun doute sur l'existence possible des cellules de levûre, en suspension dans l'air sous forme de poussières, particulièrement dans un laboratoire où l'on se livre à des recherches sur la fermentation alcoolique.

CHAPITRE IV.

CULTURE DE DIVERS ORGANISMES A L'ÉTAT DE PURETÉ. LEUR AUTONOMIE (1).

Les observations du Chapitre précédent nous ont appris que les liquides organiques naturels ou artificiels, le moût de bière entre autres, exposés au contact de l'air, ne tardent pas à nourrir des productions diverses. C'est une conséquence naturelle du mode d'ensemencement. La fécondité du liquide dépend des semences microscopiques variées que l'air commun y dépose et dont la nature et le nombre résultent de l'emplacement du vase, de sa hauteur au-dessus du sol, de la saison, de l'agitation de l'atmosphère, etc.

L'association fortuite de productions diverses dans des cultures qu'on peut croire uniques et indépendantes constitue une des

(1) Je combats dans cet Ouvrage, par des preuves expérimentales que je crois irréfutables, les opinions de plusieurs auteurs au sujet de certaines transformations du *penicillium glaucum* en levûre ou en *mycoderma*, des bactéries en levûre lactique, de la levûre en vibrions, du *mycoderma aceti* en levûre, etc... Toutefois, je ne me prononce point *a priori* sur la question de savoir si les organismes inférieurs dont il va être parlé dans ce Chapitre, y compris les levûres et les ferments proprement dits, sont des êtres complets dans leur forme habituelle ou s'ils sont susceptibles de polymorphisme; c'est sous cette réserve que j'emploie le mot *autonomie*. Quand j'invoquerai pour une espèce son polymorphisme, ce ne sera pas sans en fournir les preuves. Des organes détachés d'organismes plus élevés, des êtres à une certaine phase de leur vie, peuvent se régénérer sous une forme déterminée avec des propriétés spéciales dans des milieux et dans des conditions qui ne sauraient faire apparaître la plante ou l'animal avec ses autres formes ou modes habituels de reproduction. Les exemples de ces faits abondent aujourd'hui dans la Science. Certaines levûres alcooliques nous offriront des faits analogues; mais vouloir étendre ces résultats prématurément et admettre un polymorphisme qu'on ne saurait montrer, par cela seul qu'on le juge possible ou sur la foi d'observations confuses, c'est se livrer gratuitement à l'esprit de système.

principales difficultés de l'étude des organismes inférieurs, particulièrement des moisissures. Les germes de beaucoup de ces petits êtres se trouvant dans l'atmosphère sous forme de poussières invisibles à l'œil nu ou répandues à la surface des matières et objets divers qu'on utilise pour les expériences, l'observateur est à chaque instant exposé à interpréter d'une manière erronée les résultats qui passent sous ses yeux. Il a semé une plante, il en suit les développements ; à son insu, les spores d'une autre se sont mêlées à ses cultures et ont germé. Comme il l'ignore, il rapporte tout ce qu'il voit, toutes les transformations qu'il décrit et qu'il dessine, toutes les déductions auxquelles il est conduit à la seule plante qui le préoccupe. Plus grand encore est l'embarras quand il s'agit des bactéries, vibrions et généralement de tous les petits êtres qui se déplacent. Enfin, le milieu qui sert de substratum aux cultures ayant une influence considérable sur la fécondité des germes, aussi bien que sur leur développement ultérieur, il arrive fréquemment que ceux de ces germes qui sont fortuitement déposés par les poussières tombées de l'atmosphère ou recueillis sur les objets sont féconds et de facile multiplication, tandis que ceux qu'on a semés directement, quel qu'en soit le nombre, restent stériles ou d'une propagation moins rapide. Déposez sur du vin jeune du *mycoderma aceti,* vous recueillerez du *mycoderma vini ;* déposez du *mycoderma vini* sur du vin vieux, surtout s'il est un peu acide, vous recueillerez du *mycoderma aceti* (1). C'est par des faits de cette nature, mal interprétés, que beaucoup d'erreurs se sont introduites dans la connaissance des organismes inférieurs, et qu'on voit renaître sans cesse des discussions, soit au sujet des générations dites *spontanées,* soit au sujet des théories sur la fermentation. A chaque pas, dans le cours de cet Ouvrage, nous trouvons la trace de ces complications, comme aussi des conséquences qu'elles ont eues sur le progrès de nos connaissances.

---

(1) *Voir,* à ce sujet, mes *Études sur le vinaigre,* Paris, 1868 ; par exemple, la note de la page 76, et surtout *Études sur le vin,* 2e édition, 1873, page 19.

Par opposition à ces résultats, nous étudierons ce qui arrive à du moût de bière qu'on ensemence directement avec une semence unique sans mélange d'aucune autre.

§ Ier. — Culture du penicillium glaucum et de l'aspergillus glaucus a l'état de pureté. — Preuves que ces moisissures ne se transforment pas en levures alcooliques de la bière ou du vin. — Premières vues au sujet de la cause de la fermentation.

Reprenons notre ballon à deux tubulures de la page 29, contenant du moût sucré, lequel n'aura éprouvé, depuis le moment de sa préparation, que nous pouvons supposer déjà éloigné, aucune altération quelconque, si ce n'est toutefois une oxydation lente qui a fait brunir progressivement la couleur du liquide. Il s'agit de faire tomber dans ce liquide, non altéré et toujours fécond, des graines ou spores de *penicillium*, dépourvues de tout mélange avec des spores ou germes d'autres organismes microscopiques.

Un moyen d'y parvenir consiste à prendre au bout d'une pince métallique, préalablement chauffée, un fragment de fil de platine de 1c ou 2c de longueur, qu'on fait passer également dans la flamme de la lampe à alcool et avec lequel on touche, aussitôt qu'il est refroidi, un amas de sporanges d'une culture de *penicillium*. Si peu que l'extrémité du fil de platine prenne de spores, elle en portera dans le liquide bien au delà de ce qui est nécessaire pour l'ensemencement. Au moment même où l'on charge la pointe du fil, on enlève le bouchon de verre qui ferme le tube de caoutchouc de la tubulure droite du ballon, et on laisse tomber le fil par cette tubulure; puis on remet en place le bouchon de verre après l'avoir, par surcroît de précaution, fait passer rapidement dans la flamme de la lampe. Sans doute, on ne peut éviter ainsi la cause d'erreur qu'entraîne cette nécessité du passage dans l'air ambiant et celle de l'ouverture préalable du ballon; mais j'en ai déjà fait la remarque, cette double cause d'erreur n'a, pour ainsi dire, jamais été préjudiciable à la rigueur des expériences, parce

qu'elle s'exerce en définitive sur un volume d'air excessivement restreint et que, le ballon étant en libre communication avec l'air extérieur par l'ouverture du tube recourbé effilé, il n'y a pas de rentrée d'air quand on ôte le bouchon. La chance que l'on aurait de rencontrer une spore ou un germe fécond, que le fil porterait dans le ballon en même temps que ceux dont il est chargé, est si peu fréquente que je n'ai trouvé aucune utilité à adopter un dispositif opératoire plus sûr, lequel à la rigueur aurait pu être facilement imaginé si la nécessité s'en était fait sentir.

La manipulation qui précède donne lieu à une cause d'erreur plus sérieuse : c'est celle qui résulte de l'impureté possible de la semence quand on la prend dans un champ de graines de *penicillium*, dont le développement s'est fait au contact de l'air ordinaire. Ce champ reçoit à chaque instant et a reçu, depuis qu'il est en culture, des poussières tombées de l'atmosphère; il ne saurait donc être et n'est réellement pas exempt d'autres graines de moisissures (1).

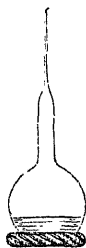
---

(1) Certaines observations du Chapitre précédent permettent de se rendre compte du nombre considérable de germes qui tombent sans cesse à la surface de tous les objets. Je fais ici allusion à l'usage que nous avons fait de ces ballons de la forme ci-contre (*fig.* 17), d'une capacité de 250^{cc} à 300^{cc}, remplis au tiers de leur volume d'un liquide organique, qu'on a fermés en pleine ébullition, qui sont par conséquent vides d'air après leur refroidissement et qu'on va ouvrir par séries de 10, 20, 30, etc., en plein air, pour les refermer aussitôt. Cette manipulation enferme dans chacun d'eux environ 200^{cc} d'air avec tout ce que ce volume d'air contient de poussières en suspension, puisque, par l'effet de la suppression brusque du vide intérieur, l'air se précipite avec force. Or on constate toujours qu'un certain nombre de ces ballons s'altèrent avec le temps, et l'on remarque que la proportion de ceux qui s'altèrent et la nature de l'altération sont en correspondance parfaite avec ce que l'on peut présumer du nombre et de la nature des germes en suspension, propres à se multiplier dans le liquide nutritif employé. Opère-t-on à une grande hauteur, loin des habitations, loin des souillures des villes, des plaines habitées, comme je l'ai fait au Montanvert, près de la mer de glace, l'altération est des plus rares. Dans une chambre habitée de la petite auberge malpropre et mal tenue du Montanvert, les résultats furent opposés. Dans un laboratoire où l'on étudie les fermentations, on recueille certaines natures de germes, souvent autres que ceux de plein air en rase campagne. Enfin, veut-on des organismes dans tous les ballons, on n'a qu'à faire soulever les pous-

L'opérateur, à son insu, pourra semer fréquemment, outre le *penicillium* seul apparent, des spores de *mucor mucedo*, de *mycoderma vini*, de toutes les moisissures les plus ordinaires en un mot.

Ce procédé d'ensemencement n'offre donc pas des garanties suffisantes. On le rend plus rigoureux en recourant à un artifice.

Prenons une série de ballons de la forme (*fig*. 17), contenant

Fig. 17.

un liquide organique propre au développement des moisissures, c'est-à-dire légèrement acide : eau de levûre, eau de levûre sucrée, moût de bière, liquide Raulin (1), etc.; faisons bouillir le liquide et, après avoir étiré le col, fermons à la lampe pendant la sortie de la vapeur, au moment où l'on juge que l'air est à peu près chassé. Préparons ainsi dix, vingt de ces vases. Après le refroidissement, brisons leurs pointes dans un lieu quelconque. L'air rentre avec force dans ces ballons; refermons-les à la lampe et attendons : bref, c'est une méthode de culture qui nous a déjà

---

sières du sol ou des objets au moment où l'on ouvre les ballons. Cette expérience si simple, si facile à reproduire, nous dit clairement qu'il est impossible que le champ de sporanges d'une moisissure, lorsqu'elle s'est formée dans un vase non couvert ou à la surface d'un fruit, orange, citron, poire, etc., ne soit pas mêlé à des germes étrangers à la petite plante. En d'autres termes, un observateur qui sème des spores de *penicillium* après les avoir recueillies, ici ou là, « avec un pinceau », s'expose à de graves causes d'erreur.

(1) On sait que M. Jules Raulin a publié un travail remarquable sur la recherche du milieu minéral le mieux approprié par sa composition à la vie de certaines

servi. Dans un certain nombre de ces ballons, ainsi que nous l'avons expliqué, nous verrons apparaître des moisissures, d'abord sous forme de flocons de mycélium nageant dans le liquide, qui viendront ensuite fructifier à la surface. Or il arrive souvent que le *penicillium glaucum* apparaît seul, tant sont nombreuses les spores de cette moisissure qui flottent dans l'air. Nous aurons évidemment, dans de telles conditions, un champ de sporanges tout à fait sans mélange étranger. Détachons le col d'un de ces ballons à *penicillium* pur et prélevons la semence avec notre fil de platine (1) : tel est le moyen le plus sûr de récolter des spores de *penicillium* exemptes d'impuretés.

---

moisissures vulgaires et qu'il a donné une formule de composition pour un tel milieu. C'est ce que j'appelle ici, par abréviation : *liquide Raulin*.

Eau	1500
Sucre candi	70
Acide tartrique	4
Nitrate d'ammoniaque	4
Phosphate d'ammoniaque	0,6
Carbonate de potasse	0,6
Carbonate de magnésie	0,4
Sulfate d'ammoniaque	0,25
Sulfate de zinc	0,07
Sulfate de fer	0,07
Silicate de potasse	0,07

J. Raulin. Paris, Victor Masson, 1870. *Thèse pour le doctorat.*

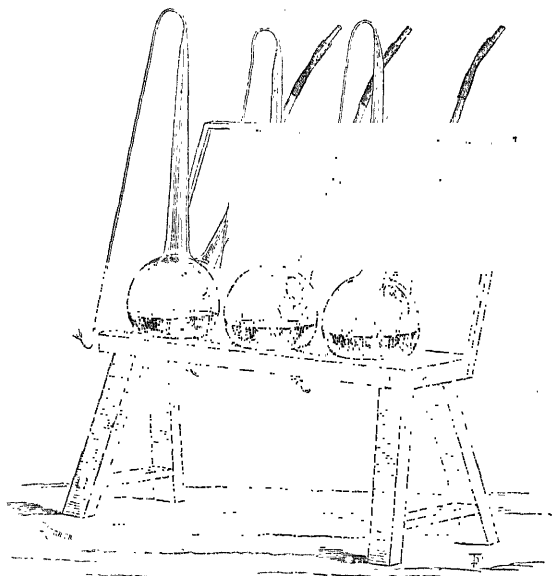
(1) Si l'on ne veut pas se livrer au hasard de ces ensemencements spontanés pour se procurer du *penicillium* pur, en ouvrant puis refermant à la lampe un certain nombre de ballons à pointe effilée, on peut utiliser comme il suit un des ballons qui, après avoir été ouverts et refermés, n'ont donné aucune production organisée. On les ensemence directement en y laissant tomber, toujours sur un fil métallique, des spores prises dans une culture quelconque de *penicillium* exposée à l'air ordinaire, et c'est dans le champ nouveau de sporanges formées par cette semence dans le ballon qui a été refermé qu'on va puiser plus tard la semence pure dont on a besoin. Cette méthode est plus rapide et presque aussi sûre.

Je dois ajouter que, lorsqu'on veut prélever pour semence des spores de *penicillium* dans un ballon fermé où la plante a fructifié, il ne faut pas attendre que celle-ci y ait séjourné trop longtemps. Après une durée de quelques jours, à la suite de l'ensemencement, la moisissure est arrêtée dans son développement, parce que tout l'oxygène a été absorbé et qu'elle se trouve plongée dans un mélange d'acide carbonique et d'azote. Le séjour trop prolongé des spores dans cette atmosphère les fait périr toutes sans exception.

Le lecteur excusera la longueur de ces détails et la minutie de toutes ces précautions. Nous aurons bien des occasions de reconnaître qu'en les négligeant, même en partie, il est difficile de déduire des faits observés des conclusions dégagées d'incertitude.

Le 17 juin 1872, on dépose des graines pures de *penicillium* dans une série de trois ballons à moût de bière (*fig.* 18), en suivant toutes les indications prescrites.

Je désignerai ces ballons par les lettres A, B, C. Les jours suivants les spores semées germent, et le liquide se remplit de flocons de mycélium, dont quelques-uns viennent fructifier à la surface. La température est de 25° à 30°.

Fig. 18.

Le 22 juin, des îlots blanchâtres sur les bords, verts au centre, sont développés sur les liquides. Alors on agite le ballon A pour submerger la plante et les spores (1). Le ballon B est

(1) Pour agiter le liquide sans danger d'introduction de poussières extérieures,

agité de même, mais après qu'on eut fermé à la lampe l'extrémité de son tube effilé, sinueux (1). Le ballon C est joint d'un côté à un aspirateur, de l'autre à un tube plein de coton, et tous les jours on renouvelle l'air du ballon.

Dans les semaines et les mois suivants, il ne s'est pas formé trace de levûre de bière dans ces ballons. J'ai répété souvent ces expériences et d'autres analogues. Dans aucun cas, je n'ai vu apparaître ni la levûre ordinaire, ni la fermentation alcoolique qu'elle détermine. On peut faire ces essais avec des jus sucrés très-propres au développement des bactéries ou de la levûre lactique. Ces dernières productions se montrent également non transformables en levûre. On ne voit jamais celle-ci prendre naissance à leur suite quand on a soin de les cultiver à l'état de pureté. Il n'en est plus de même si l'on ne prend pas toutes les précautions indispensables pour opérer sur des spores tout à fait sans mélange. Que l'on sème, par exemple, des spores de *penicillium* qui a poussé au libre contact de l'atmosphère, par conséquent exposé aux poussières qu'elle charrie, on voit fréquemment apparaître, mêlés aux tubes fructifères de la moisissure, tantôt de la levûre de bière ou du *mycoderma vini* et des torulas, tantôt des bactéries ou de la levûre lactique, et l'observateur croit de bonne foi qu'il a sous les yeux toutes les transformations des spores de la moisissure en cellules de levûre, comme il peut croire également au passage des bactéries ou de la levûre lactique à ces mêmes cellules.

Ce sont des causes d'erreur de cette nature qui ont conduit

---

on passe d'abord la flamme de la lampe à alcool sur le col étiré du ballon, dont on ferme ensuite la pointe ouverte avec un trait de flamme; on agite alors sans crainte, puis on ouvre de nouveau la pointe effilée du col sinueux afin de rétablir la communication avec l'air extérieur.

(1) Le ballon B a été fermé à la lampe, parce que les expériences dont je parle ici avaient en partie pour but de contrôler celles de M. Trécul sur la transformation du *penicillium* en levûre. Chose assez bizarre, d'après M. Trécul, comme on va le voir plus loin, les spores de *penicillium* ne se transformeraient en levûre qu'autant qu'on tiendrait « la fermeture parfaite » des vases où on les a semées.

divers naturalistes allemands à croire qu'ils avaient réussi à donner des preuves certaines qu'une foule de moisissures pouvaient faire naître la fermentation alcoolique, et qu'ils avaient manifestement démontré la transformation des spores de ces champignons en levûre de bière. M. Bail en 1856, à la même époque Berkeley, plus tard H. Hoffmann, Hallier, ont partagé à leur tour cette opinion, introduite dans la Science par M. Turpin. Je l'ai combattue dès l'année 1861 (*Bulletin de la Société philomathique*). Depuis cette époque, elle a perdu plutôt que gagné du terrain à l'étranger, malgré la faveur croissante du système de Darwin. Un des mycologues qui jouissent, de l'autre côté du Rhin, de la plus légitime autorité, M. de Bary, est arrivé, comme moi, à des résultats absolument négatifs.

La simple lecture des écrits favorables aux transformations dont je parle inspire les doutes les plus sérieux sur la rigueur des observations qu'on y invoque comme décisives. Je n'en citerai qu'un exemple, emprunté à un Mémoire de M. H. Hoffmann :

« ... Mais, dit-il, dans quelques cas, j'ai pu, grâce à des circonstances favorables, voir le ferment produire des filaments soit en petits échantillons propres à être examinés immédiatement sous le microscope, soit en grands échantillons; alors j'ai reconnu, entre autres espèces, le *penicillium glaucum*, l'*ascophora mucedo*, l'*ascophora elegans* et le *periconia hyalina*, tantôt isolés, tantôt mélangés. Voici la méthode par laquelle on obtient le plus aisément ce résultat. On verse quelques gouttes d'eau dans un tube à réactif qu'on place obliquement; on met ensuite, dans sa portion médiane, un peu de levûre fraîche, et l'on bouche le tube avec de la ouate pour empêcher l'entrée des poussières extérieures. Dans ce récipient rempli de vapeur, on voit quelquefois naître des flocons. MM. Berkeley et G.-H. Hoffmann ont obtenu aussi avec de la levûre le *penicillium* par le même procédé, à ce qu'il paraît (1). »

---

(1) *Études mycologiques sur la fermentation*, par Hermann Hoffmann. *Botanische Zeitung* et *Annales des Sciences naturelles*, 4[e] série, t. XIII, p. 24; 1860.

Mais pourquoi ne pas admettre que le *penicillium* qui s'est formé dans ces conditions soit né de spores de cette moisissure, qui étaient à la surface du tube avant de placer le bouchon de ouate ou qui se trouvaient mêlées à la levûre qu'on a déposée dans le tube?

Malgré leur plus grande exactitude apparente, les faits allégués dans ces dernières années par M. Bail, qui persiste dans sa manière de voir, laissent également beaucoup à désirer (1).

M. Trécul, qui est à peu près seul, en France, avec MM. Ch. Robin et Fremy, à partager les erreurs dont il s'agit, ne se borne pas à affirmer le passage des spores du *penicillium* à la levûre et inversement; son système est plus vaste : « Il y aurait, dit-il, suivant mes observations, la série des transformations suivantes : matière albuminoïde changée en bactéries ou directement en levûre alcoolique ou en *mycoderma;* bactéries en levûre lactique en devenant immobiles; levûre lactique en levûre alcoolique; celle-ci en *mycoderma cerevisiæ;* enfin ce dernier en *penicillium* (2). »

M. Trécul va plus loin. Il rend compte des principales de ces transformations, comme s'il en avait été le témoin irrécusable :

« En employant, dit-il, du moût de bière parfaitement filtré, ne renfermant aucune granulation et préparé entre 65° et 70°, il apparaît d'abord une multitude de fins granules qui deviennent des bactéries mobiles, lesquelles, en perdant la faculté de se mouvoir, constituent la levûre lactique, ainsi que je l'ai dit plusieurs fois. Quelques jours après l'apparition des premiers granules, on en distingue d'autres un peu plus volumineux, qui sont isolés. Ils grossissent, deviennent graduellement de petites cellules globuloïdes ou elliptiques. Celles-ci ne commencent à bourgeonner que lorsqu'elles ont acquis une dimension relative-

(1) Communication sur l'origine et le développement de quelques champignons. Dantzig, 1867.

(2) TRÉCUL, *Comptes rendus de l'Académie*, t. LXXIII, p. 1454; 28 déc. 1871.

ment considérable qui approche de celle de la levûre ordinaire; par conséquent, il y a un temps assez long pendant lequel les jeunes cellules de levûre ne présentent pas de bourgeons, surtout si l'on opère à une température peu élevée, de 20° à 35°.

» En ce qui concerne la transformation des spores du *penicillium* en levûre alcoolique, qui est niée aussi par M. Pasteur, je l'ai très-souvent obtenue avec des liquides (moût de bière qui avait bouilli, eau d'orge sucrée) qui étaient restés un mois ou six semaines sans donner de fermentation alcoolique. Ces liquides, ensemencés avec des spores de diverses formes de *penicillium*, choisi encore jeune et de belle végétation, entraient en fermentation après un nombre de jours variable, même à la température de 12°, à la condition que les flacons fussent bouchés avec un liége bien élastique, qui avait été soumis à une ébullition d'un quart d'heure à une demi-heure au plus, et dont il serait bon, comme je l'ai prescrit, de ne se servir qu'un mois après la coction, pour mieux assurer, par une nouvelle dessiccation, la mort des mycéliums que le liége peut contenir. Il est nécessaire de tenir les flacons bouchés pour que le liége soit toujours mouillé, et il est aussi à propos d'agiter les flacons une ou deux fois par jour pour assurer la submersion des spores. Ces conditions remplies, on voit bientôt les spores grossir, perdre peu à peu leur couleur verte, puis bourgeonner, et une fermentation souvent très-énergique se manifester. Toutes les spores seront transformées si la fermeture est parfaite (1). »

Telle est la manière de voir de M. Trécul. C'est tout un système de génération spontanée, décrit dans de minutieux détails

---

(1) TRÉCUL, *Comptes rendus de l'Académie*, t. LXXV, p. 1169, 11 novembre 1872. Le peu de rigueur des dispositions que M. Trécul a dû prendre pour éviter les causes d'erreur de ce genre d'expériences serait démontré pour moi par ce seul fait, que M. Trécul, quand il étudie la fécondité du moût de bière ensemencé, obtient souvent des productions diverses. Mes expériences me donnent un tout autre résultat. Si je ne sème rien, je ne récolte rien. Si je sème une plante, je récolte une plante semblable, ou, s'il y a quelque modification, celle-ci est incontestablement liée d'origine à la plante semée et la conséquence d'un changement voulu dans les conditions de l'expérience.

depuis la transformation des matières albuminoïdes jusqu'aux cellules les mieux organisées, en passant de la matière dissoute aux plus fins granules, de ceux-ci aux bactéries mobiles, de ces derniers à la levûre lactique par un simple arrêt dans la faculté de se mouvoir, etc., etc..... Tout cela pour moi est imaginaire. L'argumentation de M. Trécul repose, en effet, sur les phénomènes successifs qui se manifestent dans du moût de bière filtré « ne renfermant aucune granulation ». Cette condition est une nécessité dans son raisonnement, puisqu'il débute par cette assertion que la matière albuminoïde du moût se transforme en granulations « qui deviennent des bactéries mobiles ». Or voici une des illusions de M. Trécul. Sans doute on peut filtrer du moût de bière houblonné à limpidité presque parfaite, mais à la condition expresse qu'il soit froid. Si on le filtre chaud, il est limpide tant qu'il reste chaud; mais, à peine refroidi, il se trouble par une multitude des plus fins granules en suspension. D'autre part, du moût de bière froid, si peu qu'il ait été ou qu'il soit en contact avec de l'air, s'oxyde, et cette oxydation, qui porte surtout sur la matière colorante ou résineuse, donne un dépôt de fins granules dont la quantité augmente sans cesse avec l'oxydation. Ces granules sont un précipité absolument inerte qui, dans aucun cas, ne se transforme en bactéries mobiles. Rien de plus facile que de contrôler ce fait à l'aide de nos ballons à deux cols de la *fig. 4*, page 29, dans lesquels on a préparé à l'ébullition du moût de bière pur qu'on abandonne ensuite au refroidissement et à l'oxydation. Il se fait dans le moût ainsi exposé à l'air, mais à l'air pur privé de germes, un dépôt de granulations, qui jamais ne deviennent mobiles ni ne se transforment en quoi que ce soit d'organisé.

On remarquera que M. Trécul opère sur du moût de bière, sans dire s'il était ou non houblonné. Si M. Trécul venait à ajouter que les faits qu'il a décrits s'appliquent à du moût de bière non houblonné, je répondrais que la température de 60° à 70° est tout à fait insuffisante pour tuer les germes de bactéries dans un tel moût. Il faut porter le moût houblonné de

70° à 75° pour qu'il se montre inerte après son refroidissement au contact de l'air pur et vers 90° quand il est non houblonné.

En résumé et dans tous les cas, il doit être évident pour le lecteur que les bactéries mobiles observées par M. Trécul existaient à l'état de germes dans le moût dont il s'est servi et n'ont fait que se développer au contact de l'air, primitivement en dissolution dans le liquide.

Quant au succès de ses expériences sur le *penicillium*, je ne doute pas que M. Trécul n'ait semé des germes de levûre ou des torulas, qui ressemblent tant à la levûre, en même temps que des spores, parce qu'il a pris ses semis sur des champs de graines de *penicillium* exposés au contact de l'air ordinaire. Dans les conditions de l'expérience de M. Trécul, les spores, quoique très-abondantes, relativement aux germes de levûre étrangers qui s'y trouvaient associés, ont cédé facilement la place à ces derniers, parce que les spores n'ont pu continuer de se développer dans un milieu qui a été promptement privé d'oxygène. La multiplication des cellules de levûre, au contraire, a pu avoir lieu et aura empêché de retrouver facilement les spores semées, perdues parmi toutes les cellules de la levûre. Telle a dû être une des causes d'illusion au sujet du prétendu passage de ces spores à des cellules de levûre.

Quoique les botanistes distinguent plusieurs variétés de *penicillium glaucum*, je ne pense pas qu'on puisse soutenir que la cause de la différence entre mes résultats et ceux de M. Trécul puisse provenir de ce que je n'aurais pas opéré sur une des variétés de *penicillium* qui lui a servi à lui-même. Outre que j'ai dû en employer de très-diverses, M. Trécul dit avoir réalisé le phénomène avec de nombreuses variétés de cette plante.

Voici comment il s'exprime : « Je me suis servi pour ces expériences de spores de *penicillium* de formes diverses : 1° des grosses spores vertes et elliptiques, d'une forme de *penicillium* qui croît sur le citron ; 2° des spores elliptiques, bleuâtres et plus petites que les précédentes, d'une autre forme de *penicillium* qui se développe sur le citron ; 3° des spores

globuleuses de la forme dite *penicillium crustaceum*; 4° enfin des spores du *penicillium* qui naît de la levûre de bière (1). »

Cette critique des opinions de M. Trécul était écrite lorsque, à l'occasion d'une discussion devant l'Académie, je fus conduit à relire les Notes qu'il a publiées sur ce sujet. L'assurance de ses conclusions m'en a imposé, et je me suis demandé, une fois de plus, qui de nous deux était dans l'erreur, et, une fois de plus aussi, je me suis livré à de nouvelles expériences avec un soin extrême, en me rapprochant le plus possible des dispositions expérimentales du savant botaniste, sans toutefois tomber dans les causes d'erreur que je lui reproche. Ses descriptions me paraissant quelquefois insuffisantes, je pris le parti (c'était le 3 novembre 1873) de lui demander de vive voix quelques éclaircissements qu'il me donna avec une grande obligeance :

« Toutes les variétés de *penicillium*, me dit-il, surtout quand elles sont jeunes et vigoureuses, vous donneront la transformation en levûre. Voici comment j'opérais : j'avais de petits flacons de 30^{cc} à 40^{cc} de capacité, pleins de moût de bière ou ne contenant plus que très-peu d'air, bouchés hermétiquement avec des bouchons de liége, bouchons que j'avais maintenus un quart d'heure dans l'eau bouillante. Ces flacons étaient portés bouchés de 60° à 70°. Après refroidissement, je les débouchais, et j'y introduisais les spores préparées comme il suit : sur une lame de verre, je déposais des spores de la variété de *penicillium* que je voulais étudier, prises avec une pince, sur un citron moisi, et je délayais ces spores dans une goutte de moût ; j'observais ces spores au microscope « pour m'assurer qu'elles ne » contenaient rien d'étranger » (*sic*), puis je faisais couler la goutte, de la lame dans un des flacons. Je rebouchais celui-ci et je le couchais. La transformation en levûre avait lieu les jours suivants. »

Muni de ces nouveaux renseignements, je me remis à l'œuvre : je préparai une série de petits flacons pleins de moût de bière

---

(1) *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*, t. LXXV, p. 1220; 18 novembre 1872.

houblonné ou ne contenant que très-peu d'air, comme l'indique M. Trécul. Je les portai dans un bain-marie à 70° au minimum et je les ensemençai avec les précautions nécessaires, que j'ai décrites au commencement de ce paragraphe, et non comme le fait M. Trécul d'une manière si visiblement défectueuse, puisque M. Trécul prélève les spores-semences sur un champ de sporanges exposé à l'air, et qu'il manipule ensuite ces spores au contact de l'air, avec de l'eau, sur une lame de verre avant l'observation microscopique, etc., toutes circonstances propres à introduire des causes d'erreur sans nombre. L'une des plus graves est celle qui provient du substratum de la semence quand celle-ci est prise sur un citron moisi. Que M. Trécul examine donc au microscope l'eau de lavage d'un citron quelconque, même sain, avant toute attaque de moisissure, et il verra tout de suite à quelle cause d'erreur l'exposait sa manière d'opérer. Sur tous les fruits abondent des germes d'organismes microscopiques.

Dans tous les cas, pour toutes les séries de flacons sans aucune exception, les spores prélevées à l'aide d'un fil de platine préalablement chauffé et refroidi, dans un champ de sporanges pur, poussé en vase couvert, ont germé, fourni des flocons de mycélium, puis se sont arrêtées dans leur végétation par privation d'air. Jamais il n'est survenu la moindre fermentation, la moindre formation de levûre, ni apparence quelconque de bactéries ou de levûre lactique.

Les expériences ont été reprises avec les mêmes résultats négatifs, sur des flacons de moût non houblonné. Des expériences préalables avaient établi qu'il faut chauffer les flacons de moût houblonné à 70° au minimum et ceux du moût non houblonné à 90° pour que les moûts ne s'altèrent plus.

En résumé, contrairement aux assertions de M. Trécul, de M. H. Hoffmann et d'autres naturalistes, il n'est point exact que les spores de *penicillium* puissent se transformer en levûre alcoolique.

Envisagées à un autre point de vue, les cultures du *penicil-*

lium pur vont nous conduire à des résultats remarquables, dont l'interprétation me paraît étroitement liée à la théorie physiologique de la fermentation que j'exposerai dans un Chapitre subséquent. Il s'agit d'une production d'alcool pendant la vie de la plante pour certaines conditions de culture.

Lorsqu'on distille des liquides sucrés, à la surface ou au sein desquels on a fait pousser le *penicillium*, et que la distillation répétée est conduite comme je l'ai indiqué pour reconnaître les plus faibles quantités d'alcool, on ne tarde pas à constater que les liquides renferment fréquemment de l'alcool ordinaire; en outre, si l'on met en regard les quantités d'alcool produites, toujours assez faibles d'ailleurs, car elles dépassent rarement $\frac{1}{1000}$ à $\frac{1,5}{1000}$ du volume total des liquides, on trouve qu'il n'y a aucune proportionnalité entre celles-ci et les poids des plantes formées. Il arrivera, par exemple, que, pour un poids de plante, peut-être cent fois moindre qu'un autre, on recueillera plus d'alcool dans le premier cas que dans le second. Souvent même, pour une végétation abondante, on ne parvient pas à constater la formation de l'alcool, malgré la sensibilité du procédé que j'ai donné précédemment (page 78).

D'où peuvent provenir ces variations des résultats relatifs à la présence ou à l'absence de l'alcool, dans la végétation de la petite plante? Les nombreux essais auxquels je me suis livré m'ont paru démontrer avec rigueur qu'elles dépendent de l'abondance relative des quantités d'air ou d'oxygène qui ont été mises à la disposition de la moisissure, qu'il s'agisse de la végétation de son mycélium seul, submergé, ou de la plante complète avec ses organes de fructification. Quand la plante peut mettre en œuvre un excès d'oxygène, autant de ce gaz que sa vie peut en comporter, il n'y a pas ou très-peu d'alcool formé. Si la plante, au contraire, végète péniblement en présence de quantités insuffisantes d'oxygène, les proportions d'alcool augmentent; en d'autres termes, la plante montre alors une certaine tendance à se comporter à la manière des ferments.

Tout à l'heure, voulant nous assurer de la non-transformation des spores de *penicillium* en levûre, nous avons semé de

ces spores pures dans de petits flacons d'une capacité de 50^{cc} à 100^{cc} contenant très-peu d'air et qu'on refermait hermétiquement après l'ensemencement. La germination et la végétation des spores dans ces conditions sont toujours très-pénibles et s'arrêtent promptement par privation d'air. Le poids total de la petite plante est insensible. Dans ces cas, si l'on distille le liquide total, il n'est pas rare de voir l'alcool apparaître dès la seconde distillation et, je le répète, pour un poids de plante des plus insignifiants. Que parallèlement à ces essais on fasse pousser au contraire du *penicillium* pur dans des ballons remplis d'air sur des volumes de liquide sucré égaux aux volumes des petits flacons dont il s'agit, la plante, grâce au volume d'air considérable qu'elle a à sa disposition, sera vigoureuse et prendra même en peu de jours un poids notable. Or, en distillant le liquide sous-jacent, on trouvera souvent qu'il ne contient pas d'alcool du tout, et cela pour des poids de plante de $\frac{1}{2}$ gramme, 1 gramme et plus.

Ces résultats sont propres à toutes les moisissures que j'ai étudiées, mais très-variables avec la nature de celles-ci.

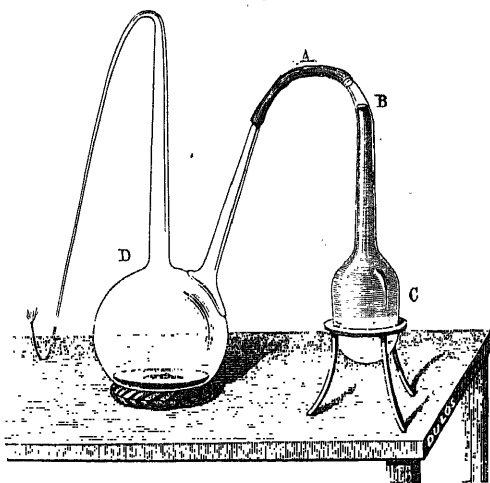
L'*aspergillus glaucus* est, sous ce rapport, une des plus curieuses.

Le 15 juin 1873, on a ensemencé trois ballons de moût de bière A, B, C, avec des spores pures d'*aspergillus glaucus*. Le développement a été rapide et la fructification abondante. Le 20 juin, on a agité le liquide et la moisissure surnageant dans les trois ballons, puis A et B ont été traités comme il suit. On a distillé le liquide de A pour y rechercher la présence de l'alcool; il n'en renfermait pas.

Le ballon B a été associé à un matras d'essayeur comme le représente la *fig.* 19, puis on a fait passer le liquide du ballon avec sa moisissure dans ce matras. Le lendemain 21 juin, le mycélium resté dans le goulot à la surface du liquide est parsemé de bulles de gaz. On les fait dégager par l'agitation. Le 22 juin, elles sont aussi nombreuses et un gros flocon de mycélium, soulevé du fond du matras, s'est arrêté à la naissance du col tout gonflé par des bulles de gaz. Celles-ci se dégagent

par l'agitation, puis elles se reforment les jours suivants et cet effet dure pendant plusieurs jours; toutefois le dégagement de gaz n'est pas continu, comme il arrive pour une fermentation ordinaire.

Le 20 juillet, on retire le liquide et on le distille : il est encore très-sucré; mais il contient une quantité sensible d'alcool. Le microscope n'accuse pas une seule cellule des levûres alcooliques ordinaires.

Fig. 19.

En conséquence, l'*aspergillus*, qui est en pleine végétation avec beaucoup d'air à sa disposition, ne donne pas d'alcool; mais, si l'on vient à le submerger de façon que l'oxygène de l'air arrive péniblement en contact avec ses diverses parties il décompose le sucre à la manière de la levûre de bière, en formant du gaz acide carbonique et de l'alcool.

Ces effets ont été plus marqués encore avec le ballon C qui, après l'agitation du liquide, n'avait pas été transvasé en grande épaisseur dans un matras d'essayeur comme le ballon précédent. Dès le 21 juin, le mycélium était soulevé à la surface et parsemé de grosses bulles de gaz qui se reformaient après qu'on les avait fait dégager par l'agitation. Ce dernier ballon fut

examiné le 1[er] novembre 1873. Il avait toujours le même aspect : le liquide était couvert d'un mycélium surchargé de sporanges, soulevé par de grosses bulles anciennes qui n'avaient pas disparu. Voici l'analyse du liquide :

Alcool.....................	1,2
Glucose.....................	84,0
Dextrine?.....................	32,0

Le liquide est très-limpide, avec un dépôt des granulations amorphes que le moût de bière forme après qu'il a été soumis à l'ébullition au moment de la préparation des ballons. En écrasant un peu du mycélium soulevé à la surface du liquide, on voit le dessin ci-contre. Au milieu des tubes ordinaires du mycélium de la plante, non représentés sur la figure, et qui n'ont que $\frac{1}{300}$ de millimètre environ, on en aperçoit de plus gros, renflés, contournés de la manière la plus bizarre, dont les renflements ont jusqu'à $\frac{1}{50}$ de millimètre de diamètre; en outre une foule de spores ordinaires d'*aspergillus*, mêlées à d'autres plus volumineuses, et de grosses cellules gonflées, à protubérances irrégulières ou sphériques, remplies de granulations. Comme il y a tous les passages entre les spores normales de la plante et les grosses cellules et entre celles-ci et les tubes, il faut admettre que toute cette végétation bizarre provient des spores qui changent de structure, sous l'influence des conditions particulières dans lesquelles on les a placées (1). Sans nul doute, ce sont ces cellules et ces tubes irréguliers qui, en végétant péniblement ont donné lieu à cette fermentation, faible quoique

(1) Au moment où je corrige les épreuves de cette rédaction déjà ancienne, il me vient des doutes sur la qualification d'*aspergillus glaucus* que j'ai donnée à la moisissure dont la *fig.* 20 représente des formes de développement, parce que je trouve dans des dessins ultérieurs de mes observations des formes analogues à celles-ci se rapportant à une espèce de *penicillium* bleuâtre, à spores un peu volumineuses. Heureusement, ce doute n'intéresse en rien le fond même du sujet. Il importe peu que ce soit une moisissure ou une autre qui donne la fermentation alcoolique avec des particularités de formes spéciales dans le développement de ses spores lorsque l'air fait défaut.

assez accusée, puisqu'elle a produit plus de 1 gramme d'alcool. L'oxygène de l'air faisant défaut ou se trouvant en quantité

Fig. 20.

insuffisante pour le développement régulier des tubes du mycélium de la plante et pour la germination de ses spores sub-

mergées, tubes et spores ont végété comme aurait fait de la levûre de bière privée d'oxygène.

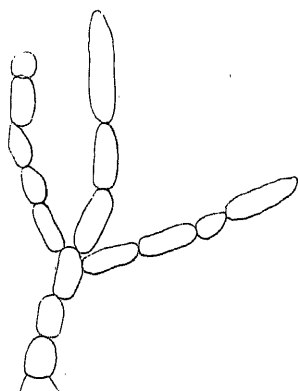
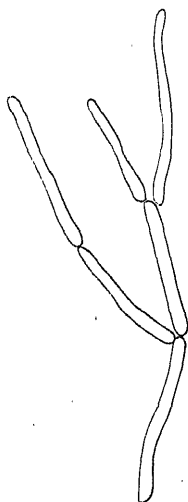
Si l'on étudie la végétation de l'*aspergillus glaucus* avec cette idée préconçue, on ne tarde pas à reconnaître, en effet, que c'est la privation plus ou moins grande d'air qui donne au mycélium ces formes globuleuses. Les tubes de ce mycélium qui viennent s'épanouir librement dans le liquide aéré sont jeunes, translucides, de petit diamètre et ramifiés à la manière ordinaire. Ceux qui sont engagés vers les parties centrales, épaisses, enchevêtrées, où l'oxygène ne peut pénétrer parce qu'il est absorbé par les parties périphériques, sont plus granuleux, plus gros avec renflements. On n'observe pas de conidies (1) sur ces tubes, mais on peut dire qu'ils sont sur le point d'en donner, car les tubes globuleux montrent souvent des cloisons très-rapprochées, de telle sorte qu'ils se présentent alors sous la forme de files de renflements ou de cellules qui éveillent l'idée de chapelets de cellules de conidies. C'est ce que représentent les figures schématiques ci-jointes, rapprochées à dessein de deux autres analogues relatives au mucor dont nous parlerons bientôt, dont les conidies sont si remarquables et dont le caractère ferment devient manifeste dès que l'air fait défaut à ses cultures.

Inutile d'ajouter que, dans ces végétations d'*aspergillus* avec fermentation alcoolique correspondante, il a été impossible de rencontrer des cellules de levûre de bière et que le liquide était si propre néanmoins à la fermentation alcoolique ordinaire, que, quand on ajoutait au liquide du ballon une petite quantité de cette levûre, déjà après quelques heures d'intervalle, une fermentation alcoolique des plus actives se déclarait.

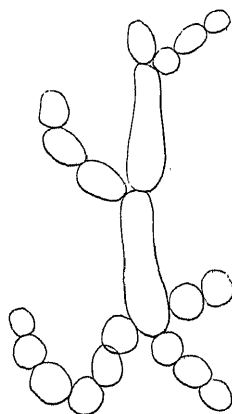
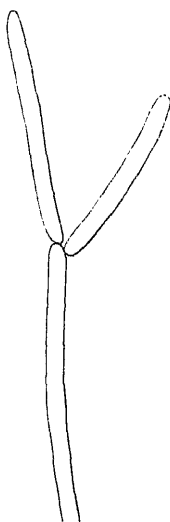
Voici d'autres nombres relatifs à une culture d'*aspergillus glaucus* qui avait également poussé sur du moût de bière ordinaire houblonné et qu'on avait abandonnée une année à elle-même.

---

(1) Par le mot *conidies*, on désigne des chaînes de cellules qui sont de véritables spores mycéliennes.

Fig. 21.

Aspergillus glaucus

végétant avec beaucoup d'air sur le bord des touffes de mycélium.

végétant avec insuffisance d'air dans les parties centrales et profondes des touffes de mycélium.

Mucor racemosus

végétant avec beaucoup d'air sur le bord des touffes de mycélium.

végétant avec insuffisance d'air dans les parties centrales et profondes des touffes de mycélium.

Ballon de 300^{cc} à deux cols, préparé et ensemencé le 21 décembre 1873, porté à l'étuve à 25° : la moisissure s'est développée en touffes isolées qui se sont réunies plus tard, sans couvrir toutefois entièrement la surface du moût. Quelques-unes des touffes ont végété au fond ; celles de la surface se sont entourées promptement de grosses bulles de gaz.

Le 12 décembre 1874, on étudie le liquide et la plante qui depuis très-longtemps paraît sans vie. Son mycélium est formé de tubes vieux et granuleux avec de rares renflements. Le poids de la moisissure sèche est de $0^{gr},50$ pour un volume total de liquide de 122^{cc}. On a recueilli $4^{cc},4$ d'alcool à 15°, soit en poids environ 7 fois le poids de la plante. Enfin l'acidité du liquide était de $2^{gr},8$ en équivalent d'acide sulfurique, poids très-supérieur à l'acidité totale d'un volume égal de moût de bière, ce qui annonce que la fermentation par l'*aspergillus glaucus* s'accompagne de la formation d'un acide organique dont il serait intéressant de déterminer la nature. M. Gayon a commencé cette étude dans mon laboratoire.

Je rapporterai en dernier lieu, au sujet de l'*aspergillus glaucus*, les résultats comparés de deux cultures faites rigoureusement dans les mêmes conditions, dans des ballons de volumes identiques, mais différents par cette circonstance que l'un d'eux était constamment traversé par un courant d'air pur barbotant dans le liquide. Lorsque, au bout de quelques jours, la moisissure du ballon à air renouvelé eût acquis un volume considérable par rapport à l'autre, on brisa les ballons pour retirer les deux moisissures et comparer leurs poids, après dessiccation à 100 ; on trouva :

Moisissure avec air renouvelé....	0,92
Moisissure avec air confiné......	0,16

Rapport des poids $\frac{92}{16} = 5,75$.

Or le liquide du ballon avec courant d'air ne contenait pas d'alcool. On avait eu le soin de condenser par un tube en U, entouré d'eau froide, les vapeurs emportées par le courant

d'air. Le liquide de l'autre ballon renfermait une quantité très-sensible d'alcool, quoique la moisissure de ce ballon eût un poids près de 6 fois moindre que celle de l'autre.

L'ensemble des faits qui précèdent me paraît démontrer une fois de plus, d'une manière certaine : 1° que ni le *penicillium* ni l'*aspergillus glaucus* ne se change en levûre de bière même dans les conditions les plus favorables à la vie de ce ferment; 2° qu'une moisissure qui végète en utilisant l'oxygène de l'air, qui tire des combustions que ce gaz provoque la chaleur dont la plante a besoin pour l'accomplissement des actes de sa nutrition, peut continuer de vivre, quoique péniblement, en l'absence de ce gaz et qu'alors les formes de sa végétation mycélienne ou sporique changent, en même temps que la plante montre une grande tendance à devenir ferment alcoolique, c'est-à-dire qu'elle décompose le sucre en formant du gaz carbonique, de l'alcool et d'autres substances non déterminées et probablement variables avec les diverses moisissures : telle est du moins une interprétation des faits que nous venons de passer en revue. Les observations des paragraphes et Chapitres suivants la rendront de plus en plus vraisemblable.

§ II. — Culture du mycoderma vini a l'état de pureté. — Confirmation de nos premiers aperçus touchant la cause de la fermentation. — Le mycoderma vini ne se transforme pas en levure quoiqu'il puisse provoquer un commencement de fermentation.

Tout le monde connaît les fleurs du vin, du cidre, de la bière (1). On ne peut pas exposer à l'air les liqueurs fermentées sans qu'elles se recouvrent promptement d'une pellicule blanche qui épaissit et se ride d'une manière prononcée, au fur et à mesure que la place lui manque pour s'étendre horizontalement au gré de la multiplication extraordinaire des articles qui la composent. La rapidité de cette multiplication tient quelquefois du prodige. Pendant les chaleurs de l'été, lorsque le mi-

---

(1) *Voir* Pasteur, *Études sur le vin*, 1re édition, pages 20 et suivantes.

lieu est très-approprié à la vie de la plante, c'est par milliards qu'on compterait le nombre des cellules qui poussent dans l'intervalle de quelques heures. Aussi l'absorption de l'oxygène nécessaire à l'activité de cette nutrition et la chaleur développée dans le voile ainsi que le dégagement d'acide carbonique qui en sont la conséquence sont considérables. Une lame de verre qui recouvre à distance le mycoderme se mouille en quelques instants d'une buée qui se résout bientôt en grosses gouttes d'eau. La quantité d'oxygène utilisée est si grande qu'on ne voit apparaître à la surface de ce voile aucune autre moisissure quoique l'air y dépose sans cesse par ses poussières des spores étrangères à la nature du mycoderme ; ce dernier absorbe à son profit tout l'oxygène de l'air, malgré le renouvellement incessant de l'atmosphère qui baigne cette surface chaude et humide. Mais, quand la végétation devient languissante, la plante se trouve bientôt, au contraire, associée à d'autres mycodermes, le *mycoderma aceti* notamment, ou à des moisissures diverses parmi lesquelles figure généralement le *penicillium glaucum*. C'est un de ces faits dont la mauvaise interprétation a conduit à l'opinion d'une transformation possible, facile même, du *mycoderma vini* ou *cerevisiæ* en *penicillium* et inversement (1).

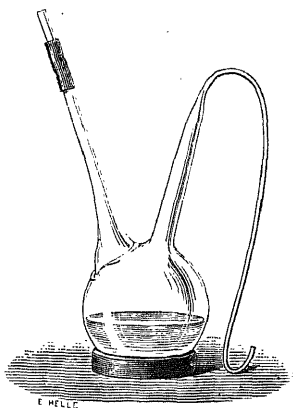
---

(1) Au moment où je relis ce paragraphe, je trouve dans le *Journal d'Anatomie et de Physiologie* de M. Ch. Robin, et sous sa signature, un article intitulé : *Sur la nature des fermentations*, etc., juillet-août 1875, dans lequel ce savant micrographe s'exprime ainsi : « La *torula cerevisiæ* dérive du *mycoderma cerevisiæ*. Je ne doute » pas non plus, d'après ce que j'ai observé, que le *penicillium glaucum* ne soit une » des formes évolutives des spores ou levûres précédentes, comme l'a montré de» puis longtemps M. Trécul ; que, de plus, les spores du *penicillium* donnent les » formes sporiques dites *mycoderma* en germant dans des milieux convenables. »

Je prends la liberté de faire observer que ce sont là des assertions dont M. Robin ne donne aucune preuve. Il n'est pas possible de désigner, quant à présent, un milieu convenable propre à constater ces transformations ou polymorphismes divers. Depuis Turpin, qui avait cru si bien les voir, jusqu'à nos jours, tous les micrographes qui ont affirmé ces transformations n'ont jamais réussi à porter la conviction dans les esprits, et les observations les plus récentes de M. Trécul sont formellement contredites par les miennes, notamment en ce qui concerne le *penicillium* et ses transformations en levûre ou en mycoderme de la bière, ce dont j'ai donné ci-dessus des preuves, à mon avis, péremptoires.

L'étude de la culture du *mycoderma vini* à la surface des liquides sucrés et dans leurs profondeurs, sans mélange possible d'autres espèces, présente le plus grand intérêt pour la théorie de la fermentation alcoolique : suivons-la dans quelques exemples avec tous les détails qu'elle comporte.

Le 21 juin 1872, on ensemence du *mycoderma vini* dans trois ballons à deux tubulures A, B, C, de la forme connue (*fig.* 22),

Fig. 22.

contenant du moût de bière. Le *mycoderma vini* qui sert de semence est pris sur de l'eau de levûre sucrée, dans un ballon clos ordinaire où il a été semé venant du moût de bière, lequel avait été ensemencé avec du *mycoderma vini* poussé sur du vin. Chacun de ces ensemencements a été fait à l'aide d'un fil de platine qu'on trempait dans le voile en le tenant par une pince (pince et fil préalablement passés dans la flamme pour les purifier). Par cette série de cultures, en vases fermés qu'on ne fait que découvrir un instant au moment où on y laisse tomber la semence, on éloigne du mycoderme toute trace de spores étrangères, particulièrement les germes du *mycoderma aceti,* compagnon habituel du *mycoderma vini*. Le *mycoderma aceti* se propage très-difficilement sur les liquides sucrés neutres.

Les jours suivants, des voiles de *mycoderma vini* s'étendent

à la surface des liquides dans les trois ballons. Leur apparence est très-pure. On vérifie au microscope l'absence complète d'un mélange de *mycoderma aceti*, de levûre lactique, etc. (1).

Le 26 juin, on décante et l'on distille le liquide de A : on n'y trouve pas d'alcool. Les liquides B et C sont agités (avec les précautions convenables) de manière à submerger leurs voiles autant que possible, puis on porte les ballons à une température de 26° à 28° C. Le lendemain et les jours suivants, on voit s'élever sans cesse à travers le liquide resté limpide, sous la portion de voile non tombée, un grand nombre de petites bulles de gaz acide carbonique, ce qui offre l'aspect d'une fermentation lente, mais continue. Le 29 juin, on décante et on distille le liquide de B ; on y trouve une proportion très-sensible d'alcool, qui s'accuse dès la première distillation. Le ballon C qui est agité de nouveau donne toujours des signes de fermentation; mais, quelques jours après, le dégagement des bulles d'acide carbonique s'arrête.

Constatons d'abord, en passant, la non-transformation du *mycoderma vini* en levûre. Aujourd'hui, en effet, ce 15 juillet 1873, le ballon est sous mes yeux avec son voile et son dépôt de *mycoderma vini* sans trace de moisissure étrangère ni *penicillium glaucum*, ni *mucor mucedo*, ni *rhyzopus nigrans*, ni *mycoderma aceti*, enfin aucune des productions qui n'auraient pas manqué d'apparaître à la surface de ce substratum si propre à leur développement, s'il était dans la nature du *mycoderma vini* de se transformer en l'une ou l'autre de ces moisissures vulgaires. En outre, le liquide est encore sucré et ne renferme pas du tout de cellules de véritable levûre de bière. Concluons donc que, lorsqu'une ou plusieurs de ces

---

(1) Rien de plus facile que d'étudier les liquides et les productions de nos ballons dans le cours d'une expérience : on enlève le bouchon de verre qui ferme le tube de caoutchouc de la tubulure droite et, à l'aide d'une longue baguette qui a été flambée ou d'un tube de verre, on fait une prise qu'on retire aussitôt pour l'examen microscopique; puis on replace le bouchon de verre préalablement passé dans la flamme pour brûler les poussières organiques qu'il a pu prendre sur la table où on vient de le déposer.

moisissures viennent se mêler, déjà après quelques jours, à une culture de *mycoderma vini* faite et suivie au contact de l'air commun, c'est que cet air a provoqué, à l'insu de l'observateur, un ensemencement spontané de germes de ces productions étrangères.

On pourrait craindre peut-être que les conditions de la culture dans nos ballons ne fussent pas favorables à l'apparition simultanée de ces moisissures vulgaires et du *mycoderma vini :* en aucune façon. Le 24 juin 1872, j'ai semé, dans trois ballons d'eau de levûre sucrée disposés comme les précédents :

Dans le premier, du *mycoderma vini* associé à du *penicillium glaucum ;*

Dans le deuxième, du *mycoderma vini* associé à du *mucor mucedo ;*

Dans le troisième, du *mycoderma vini* seul.

A cet effet, on trempait le fil de platine porte-semence dans le voile pur du *mycoderma vini,* puis on touchait avec ce fil les sporanges de la moisissure. Le 29 juin, on voit à la surface du premier ballon des îlots verts de *penicillium* et des taches de *mycoderma vini ;* dans le deuxième, un mycélium volumineux de *mucor mucedo* gonflé de grosses bulles, soulevé à la surface du liquide et tout recouvert d'un voile de *mycoderma vini.* Quant au troisième ballon, le liquide ne porte à sa surface que des taches de *mycoderma vini* très-pur. Ce dernier ballon, après plusieurs mois de séjour dans une étuve à 25°, ne montrait encore que du *mycoderma vini* sans mélange d'une autre moisissure quelconque.

On peut donc assurer que le *mycoderma vini* végétant à la surface des liquides appropriés à sa nutrition, au contact de l'air privé de ses poussières fécondes, ne donne pas le moindre signe d'une transformation en moisissure vulgaire ou en levûre de bière, quelle que soit la durée de son exposition au contact de cet air pur.

Revenons maintenant à cette production faible et limitée de gaz carbonique et d'alcool dont nous avons constaté la formation à une température élevée, après avoir submergé le voile de *mycoderma*

vini (1). On ne saurait douter que nous rencontrons ici un fait de tout point semblable à celui que nous ont offert le *penicillium* et l'*aspergillus* étudiés au paragraphe précédent. Lorsque les cellules ou articles de *mycoderma vini* sont en pleine activité de germination et de propagation au contact de l'air sur un substratum sucré, ils vivent aux dépens de ce sucre et des autres matériaux sous-jacents, absolument comme le font les animaux qui utilisent également l'oxygène de l'air en dégageant de l'acide carbonique, brûlant ceci ou cela et corrélativement grossissant, se régénérant et créant des matériaux nouveaux. Non-seulement, dans ces conditions, le *mycoderma vini* ne forme pas d'alcool sensible à l'analyse, mais, s'il existe de l'alcool dans le liquide sous-jacent, le mycoderme le brûle et le réduit en eau et en gaz carbonique par la fixation de l'oxygène de l'air (2). Mais submergeons tout à coup le mycoderme et voyons ce qui en résulte : dans l'hypothèse que la vie de cette moisissure ne saurait s'accommoder des nouvelles

---

(1) On peut accuser autrement l'existence de la fermentation alcoolique par les cellules de *mycoderma vini* submergé. A cet effet, après avoir tout préparé comme il a été dit ci-dessus et agité le voile de *mycoderma vini* dans son liquide, on joint le ballon à un matras d'essayeur, comme le représente la figure page 101, et l'on fait passer le liquide trouble dans le matras. Les jours suivants, on voit une fermentation continue de très-longue durée accusée dans le matras par de très-petites bulles qui s'élèvent sans cesse du fond, mais en petit nombre à chaque moment. La fermentation n'est pas douteuse dans sa continuité, mais elle est fort peu active et, quoique d'une très-longue durée, elle s'arrête bien longtemps avant que le sucre soit épuisé.

L'expérience faite comme je viens de l'indiquer prouve mieux que toute autre la non-transformation du *mycoderma vini* en moisissures vulgaires, *penicillium* ou autre. En effet, après le transvasement du liquide dans le matras d'essayeur, les parois du ballon restent recouvertes de traînées de *mycoderma vini* et d'un peu de liquide. Il y a eu, en outre, rentrée d'air dans le ballon et cet air se renouvelle sans cesse par partie par les variations de température de l'étuve. Le *mycoderma vini* resté sur les parois est donc dans les meilleures conditions pour se transformer, si cela était possible, en moisissure. Bien plus il est facile de séparer le ballon du matras et de faire passer de l'air pur dans le ballon une ou deux fois par jour, ou constamment. Dans aucun cas on ne voit naître et pousser autre chose que du *mycoderma vini*.

(2) *Voir* PASTEUR, *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*, t. LIV, 1862, et t. LV, 1862 : *Études sur les mycodermes*, etc.

conditions qui lui sont offertes, elle périra comme un animal que la privation subite d'oxygène asphyxie ; que sa vie, au contraire, puisse se poursuivre, et l'on devra s'attendre à des phénomènes particuliers, soit de structure organique, soit d'action chimique, puisque les conditions de la nutrition ont été changées. L'observation démontre, en effet, que la vie des cellules du mycoderme submergé se continue, lente, difficile, de courte durée, mais non douteuse, et qu'elle s'accompagne de la fermentation alcoolique, c'est-à-dire de la production d'alcool et d'un dégagement d'acide carbonique. Si l'on prélève une goutte du liquide tout chargé des cellules disjointes du mycoderme, l'un des jours qui suivent immédiatement la submersion du voile, on constate des changements faibles, mais sensibles, dans l'aspect d'un grand nombre de ces cellules : elles grossissent, leur protoplasma se modifie, plusieurs poussent de petits bourgeons ; toutefois il est visible que ces actes de nutrition intérieure et les mutations qui en résultent dans les tissus sont d'un développement pénible ; les bourgeons, quand il s'en forme, avortent promptement, et il n'y a pas génération de nouvelles cellules. Ces changements, néanmoins, s'accompagnent d'une décomposition du sucre en alcool et en acide carbonique.

En rapprochant ces faits de ceux que nous avons signalés dans les cultures du *penicillium* et de l'*aspergillus,* nous sommes contraints d'admettre que la production de l'alcool et de l'acide carbonique à l'aide du sucre, en un mot la fermentation alcoolique, sont des actes chimiques liés à la vie végétale de cellules de natures très-diverses et qu'ils apparaissent au moment où ces cellules cessent de pouvoir comburer librement les matériaux de leur nutrition par l'effet de la respiration, c'est-à-dire par l'absorption du gaz oxygène libre, et qu'elles poursuivent leur vie en utilisant des matières oxygénées qui, comme le sucre ou les substances explosibles, produisent de la chaleur en se décomposant. Le caractère ferment se présente donc à nous comme n'étant pas propre à tel ou tel être, à tel ou tel organe, mais comme une propriété générale de la cellule vivante caractère toujours prêt à se manifester et se manifestant réelle-

ment, dès que la vie ne s'accomplit plus sous l'influence du gaz oxygène libre ou d'une quantité de ce gaz suffisante pour tous les actes de nutrition. On le verrait commencer et cesser avec ce genre de vie : peu accusé et de faible durée, si ce genre de vie est lui-même dans ces conditions ; intense, au contraire, de longue durée, et fournissant de grandes quantités d'alcool et de gaz carbonique, quand la plante, l'organe ou la cellule pourraient se multiplier avec facilité sous ces influences nouvelles. De là, tous les degrés imaginables dans l'énergie de la fermentation et aussi l'existence de ferments de toutes formes et d'espèces très-diverses. On imagine même sans peine que la décomposition du sucre pourrait être tout autre que celle dont nous avons parlé et qu'elle donnât, au lieu d'alcool, d'acide carbonique, de glycérine, etc., des acides lactique, butyrique, acétique, etc... Ce serait une certaine classe seulement de végétaux cellulaires plus ou moins analogues qui décomposeraient le sucre en alcool et en acide carbonique; d'autres, spécifiquement différents, agiraient d'une autre manière. Bref, autant d'êtres, pour ainsi dire, autant de ferments différents.

La *Pl. IV* représente dans ses deux moitiés, à deux intervalles de temps inégalement éloignés de la submersion, l'état du *mycoderma vini*. On voit nettement, dans le demi-cercle de gauche, le gonflement de beaucoup d'articles, la modification de leur plasma intérieur et le bourgeonnement qui commence sur plusieurs d'entre eux. Ce bourgeonnement n'avorterait pas, les bourgeons grossiraient, se détacheraient en cellules nouvelles pouvant bourgeonner à leur tour, qu'on aurait sous les yeux tous les caractères de la levûre de bière, et sans nul doute ceux d'une fermentation très-active parce qu'elle serait de l'ordre des phénomènes de nutrition et d'énergie vitale dont nous parlons. Mais, au lieu d'insister sur l'interprétation de faits encore peu nombreux, continuons d'accumuler ceux-ci en les faisant varier le plus possible. Chacun des exemples pris isolément pourra paraître insuffisant pour établir la théorie que j'essayerai de faire prévaloir, mais leur ensemble entraînera, je l'espère, la conviction du lecteur.

Dès à présent, il me paraît utile d'introduire deux expressions nouvelles propres à caractériser les faits qui précèdent et dont l'usage abrégera souvent le discours. Puisque la vie peut se continuer dans certaines conditions hors du contact de l'oxygène de l'air, et que la nutrition s'accompagne alors d'un phénomène qui a tout à la fois une grande importance scientifique et industrielle, on pourrait partager les êtres vivants en deux classes : les *aérobies,* c'est-à-dire ceux qui ne peuvent vivre sans air, et les *anaérobies* qui, à la rigueur, et pour un temps peuvent s'en passer; ces derniers seraient les ferments proprement dits. D'un autre côté, comme on peut concevoir dans un organisme entier un organe ou même une cellule capable de poursuivre son existence, au moins momentanément, en dehors de l'influence de l'air et d'avoir le caractère ferment à un moment donné, on pourrait se servir également de l'expression *cellule anaérobie,* par opposition à celle de *cellule aérobie.*

J'avais déjà proposé les expressions précédentes en 1863, dans mon travail sur la putréfaction, et j'ai eu la satisfaction de les voir adoptées depuis par divers auteurs, en France et à l'étranger.

L'une des principales assertions de ce paragraphe est relative à la non-transformation du *mycoderma vini,* soit en moisissures, soit en levûre de bière (1). A l'exemple de Turpin et de beaucoup d'autres observateurs, j'ai cru pendant longtemps, non à la transformation du *mycoderma vini* en telle ou telle moisissure vulgaire, mais à la transformation de ce mycoderme en levûre alcoolique; puis, à la suite de recherches plus approfondies, j'ai fini par reconnaître dans mes expériences cette même cause d'erreur que j'ai eu si souvent l'occasion de signaler dans les observations de mes contradicteurs, à savoir, l'ensemencement fortuit et spontané, à l'insu de l'expérimentateur, de la plante même de transformation cherchée.

---

(1) Dans un chapitre ultérieur, je prouverai que la levûre de bière ne se transforme pas davantage en *mycoderma vini.*

Quand on considère que toute liqueur vineuse fermentée, mise en vidange, se recouvre de *fleurs*, on a peine à se défendre de l'idée que cette fleur doive provenir originairement de cellules de la levûre qui a fait fermenter le liquide, cellules dont ce dernier ne saurait être débarrassé complétement, quelle que soit sa limpidité, et qui viendraient vivre à la surface du liquide à la manière des moisissures. Je voulus soumettre cette vue préconçue à l'épreuve de l'expérience ; mais il y a une telle ressemblance entre les formes possibles de la levûre et celles du mycoderme qui composent la fleur, que je n'espérais pas pouvoir arriver à la solution que je cherchais par l'observation microscopique, c'est-à-dire par la recherche d'un passage effectif d'une cellule de levûre à une cellule de mycoderme. Dès lors, et pour tourner la difficulté, je tentai de produire la transformation inverse, celle du *mycoderma vini* en levûre. La pensée me vint que j'y parviendrais sans doute, en submergeant dans un liquide sucré très-favorable à la fermentation alcoolique une certaine quantité de *fleurs du vin* ou de *fleurs de la bière*. Submerger le mycoderme, c'était en effet éloigner les conditions ordinaires de la vie de ce genre de moisissures ; c'était supprimer l'arrivée de l'oxygène de l'air, parce que cet oxygène serait toujours assez retenu par la portion du mycoderme qui resterait à la surface du liquide, même après la submersion, aussi complète qu'elle pourrait être effectuée ; c'était se rapprocher, d'autre part, des conditions ordinaires de la vie de la levûre qui agit au fond ou dans la masse des liquides en fermentation.

Voici comment je disposai les expériences : dans des cuvettes plates en porcelaine, je cultivais du *mycoderma vini* pur (1) sur des liquides fermentés, tels que le vin ou la bière, ou sur des liquides vineux artificiels, tels que l'eau de levûre alcoolisée, en ayant le soin de porter préalablement ces liquides à l'ébul-

(1) La pureté du mycoderme était obtenue en agissant comme je l'ai dit précédemment pour se procurer des spores de *penicillium* ou autres moisissures à l'état de pureté.

lition pour tuer les germes de levûre et autres qu'ils pouvaient renfermer. Les cuvettes elles-mêmes, un peu avant de servir, étaient plongées dans l'eau bouillante, ainsi que les lames de verre destinées à les recouvrir. Dès que le voile du mycoderme était bien développé, épais, ridé même, ce qui exige, par les températures de l'été, deux à trois jours seulement, je décantais, à l'aide d'un siphon, le liquide sous-jacent. Le voile était ainsi amené sur le fond de la cuvette. Je délayais ensuite toute la masse des fleurs dans un liquide sucré, qui avait été porté à la température de l'ébullition et qu'on avait fait refroidir en vase clos. A l'ordinaire, je me servais des moûts de raisin ou de bière conservés par la méthode d'Appert. Je vidais alors le mélange de liquide sucré et de fleur dans des ballons à long col qui avaient été également chauffés au préalable, ainsi que les entonnoirs employés pour le transvasement.

Les expériences ainsi conduites me paraissaient à l'abri des causes d'erreur. Je n'ignorais pas que j'agissais plus ou moins au contact de l'air atmosphérique, mais je n'avais à redouter, pour la sûreté de la conclusion que j'avais en vue, que les germes de levûre alcoolique, et je savais qu'ils étaient peu nombreux dans les poussières en suspension dans l'air. En conséquence, si je réussissais à voir naître toujours de la levûre dans mes ballons à long col, et une fermentation alcoolique active, je pourrais, sans crainte d'erreur, je le pensais du moins, admettre le fait de la transformation des cellules du mycoderme en cellules de levûre. Je croyais, d'autre part, que je trouverais vraisemblablement dans la forme des cellules de levûre issues directement de celles du *mycoderma vini* une structure plus ou moins allongée, qui serait le témoin irrécusable de la transformation cherchée, si réellement elle était possible.

Chose assurément remarquable, tout se passa comme ces prévisions l'exigeaient. Les moûts sucrés des ballons dans lesquels j'avais délayé et submergé le mycoderme fermentaient au bout de quelques jours; la levûre était d'abord en articles allongés; enfin il était sensible par le microscope que beaucoup des cellules ou articles du mycoderme se gonflaient et paraissaient offrir des

passages non douteux entre leur état naturel et celui des cellules de levûre qui remplissaient bientôt une partie du dépôt des vases. J'étais pourtant le jouet d'une illusion.

Dans les expériences conduites comme je viens de le dire, la levûre qui prend naissance, et qui donne lieu assez promptement à une fermentation alcoolique active, est apportée originairement par l'air atmosphérique qui en laisse tomber les germes ou sur le voile mycodermique ou sur les objets qu'on emploie pendant la succession des manipulations. Deux particularités de ces expériences me donnèrent l'éveil sur l'existence de cette cause d'erreur. Il m'arriva quelquefois de trouver au fond des ballons où j'avais submergé la *fleur,* parmi les cellules du mycoderme, de grosses cellules sphériques de *mucor mucedo* ou *racemosus,* de ces cellules-levûre que nous apprendrons bientôt à connaître en étudiant cette curieuse moisissure. Puisqu'il y a du *mucor mucedo* ou *racemosus,* quoique je n'aie semé que du *mycoderma vini,* c'est donc, me dis-je, qu'une ou plusieurs spores de ce *mucor* ont été apportées par l'air ambiant. Or, si l'air apporte des spores du *mucor* dans mes opérations, pourquoi n'apporterait-il pas des cellules de levûre, dans mon laboratoire surtout? En outre, il advint qu'au nombre de mes expériences que je multipliais, sous la pression de mes doutes, et dans lesquelles je ne me lassais pas de rechercher cette désirable transformation, qui allait si bien à la théorie physiologique de la fermentation à laquelle j'avais été conduit, quelques-unes eurent un résultat négatif, c'est-à-dire dans lesquelles la transformation du mycoderme en levûre n'eut pas lieu, quoique les conditions fussent aussi semblables qu'on pouvait le souhaiter à celles des expériences où je la voyais réussir. Pourquoi, pensai-je, cette inactivité dans les cellules du mycoderme? Même dans les cas les plus favorables de la prétendue transformation, il arrivait sans doute qu'une foule de cellules du *mycoderma vini* ne devenaient pas cellules de levûre; mais comment admettre que, parmi les milliards de cellules submergées, toutes fussent impropres à la transformation, si cette transformation était réellement possible?

C'est alors que, pour sortir d'embarras, je résolus de modifier complétement le dispositif des essais, et d'appliquer à la recherche que j'avais en vue une méthode de culture qui supprimerait complétement, ou à très-peu près, la seule cause d'erreur que j'entrevoyais, c'est-à-dire la chute possible des germes ou des cellules de levûre pendant les manipulations. J'y parvins par l'emploi des ballons à deux tubulures dont une droite est fermée par un caoutchouc avec bouchon de verre, l'autre étirée en col de cygne effilé. L'usage de ces ballons, qui était alors nouveau pour moi, permit la culture du mycoderme et son étude microscopique sans que j'eusse à craindre la chute des poussières extérieures. Cette fois j'obtins les résultats consignés dans la première partie de ce paragraphe. Plus jamais je ne revis de la levûre, ni une fermentation alcoolique active, à la suite de la submersion des fleurs soit dans les ballons mêmes, soit dans les matras d'essayeur joints à ces ballons, comme le représente la *fig.* 19 de la page 101. Toutefois, je constatai en revanche cette sorte de fermentation alcoolique dont j'ai parlé précédemment et qui est due au mycoderme lui-même, fermentation plus instructive encore que celle que j'avais cru mettre en évidence, et non moins utile assurément pour appuyer la théorie de la fermentation dont j'ai donné plus haut un premier aperçu.

A une époque où les idées de transformation des espèces sont si facilement acceptées, peut-être parce qu'elles dispensent de l'expérimentation rigoureuse, il n'est pas sans intérêt de considérer que, dans le cours de mes recherches sur les cultures des plantes microscopiques à l'état de pureté, j'ai eu un jour l'occasion de croire à la transformation d'un organisme en un autre, à la transformation du *mycoderma vini* ou *cerevisiœ* en levûre, et que cette fois-là j'étais dans l'erreur; je n'avais pas su éviter la cause d'illusion que ma confiance motivée dans la théorie des germes m'avait fait découvrir si souvent dans les observations des autres.

§ III. — Culture du mycoderma aceti a l'état de pureté.

Les cultures de *mycoderma aceti* n'ont pas échappé aux nombreuses causes d'erreur qui entourent les observations faites sur les organismes microscopiques. Cette petite moisissure est encore, pour beaucoup d'auteurs, une de ces espèces polymorphes susceptibles de modifications profondes, dépendant des conditions de leur culture : elle pourrait être tour à tour bactérie, vibrion, levûre de bière, etc.... A son sujet on a vu renaître dans ces dernières années, sous un nom nouveau, l'ancienne hypothèse de Buffon sur les *molécules organiques,* celle de Turpin sur les *globulins punctiformes* de l'orge, du lait, de l'albumine, celle du Dr Pineau de Nancy ou *théorie de la pellicule proligère* de Pouchet (1).

M. Béchamp, professeur à la Faculté de Médecine de Montpellier, dédaignant les expressions que je viens de rappeler, les a changées pour celle de *microzyma,* tout en gardant les opinions et les erreurs qu'elles représentaient. Ce savant désigne du nom de *microzyma* tous ces globulins punctiformes qu'on rencontre dans la plupart des liquides organiques soumis au microscope, et il leur attribue, avec Turpin, la faculté de jouer le rôle de ferments, celui également de se transformer en levûre de bière et en divers organismes. Le lait, le sang, les œufs, l'infusion d'orge, etc...., même la craie, en contiennent, et nous avons maintenant, piquante découverte à coup sûr, l'espèce *microzyma cretæ*. Les personnes, et je suis de ce nombre, qui ne voient dans ces granulations des liquides organiques que des choses encore indéterminées les appellent *granulations moléculaires* ou *granulations mobiles,* parce qu'elles ont le

(1) Buffon, *Histoire de l'Homme*, t. VIII. Édition in-12, 1778. — Turpin, *Mémoires de l'Académie des Sciences*, t. XVII. — Dr Pineau, *Annales des Sciences naturelles,* t. III, 1845. — Pouchet, *Traité de la génération dite spontanée,* p. 335, 1859. — Voir aussi mon *Mémoire sur les générations dites spontanées* de 1862, page 100 et suiv., où je résume quelques-unes de ces doctrines.

mouvement brownien. Les mots vagues conviennent aux connaissances vagues. Quand la précision dans les termes ne correspond pas à des idées nettes résultant elles-mêmes de l'observation de faits rigoureusement étudiés, il arrive tôt ou tard que les faits imaginaires disparaissent, mais les mots créés prématurément pour les représenter, restent dans la Science, avec une signification erronée qui nuit au progrès au lieu de le servir.

Voici un résumé du système de Turpin fait par lui-même. C'est toute une biogénèse qui laisse loin derrière elle la théorie des microzymas de M. Béchamp, les descriptions de M. Fremy sur l'hémiorganisme, celles de M. Trécul sur la naissance des bactéries et de la levûre lactique....

« Lorsqu'une matière muqueuse n'offre rien d'apercevable au microscope, comme, par exemple, de la gelée, de la gomme dissoute, du blanc d'œuf, de la séve simplement épaissie en *cambium* naissant, nous la nommons *matière organique* ou *matière organisable*. On lui accorde l'imprégnation de la vie organique au degré le plus simple, on la considère comme les matériaux encore isolés de l'organisation. On suppose que les molécules invisibles dont se compose cette matière organisable se rapprochent, se combinent et servent, par l'effet de cette association, à construire les divers organes élémentaires des futurs tissus....

» N'est-il pas plus vrai de penser que la matière organisable est de toute origine, formée d'innombrables globulins trop ténus et trop transparents encore pour pouvoir être appréciables à des moyens microscopiques actuels et que tous ces globulins, toujours doués de mouvement et de leur centre vital particulier, mais dont un grand nombre avortent, sont tous capables de se développer isolément, soit en un organe élémentaire de tissu, soit en un végétal mucédiné?

» La matière organisable peut, suivant ses états successifs de développement ou d'âges et suivant les diverses formes qu'elle prend dans les tissus, être distinguée par des dénominations particulières.

» 1° On peut l'appeler *matière organisable,* tant que ses com-

posants globulins ne sont pas encore sensibles au microscope actuel ;

» 2° *Tissu amorphe* ou *globuliné*, au moment où les globulins, d'abord invisibles, apparaissent au microscope après s'être accrus : amorphe ou sans forme ne s'applique ici qu'à l'association des globulins et non aux globulins eux-mêmes ;

» 3° *Tissu vésiculeux*, lorsque les globulins, en continuant de croître, se sont vésiculés de manière à offrir une masse de vésicules contiguës encore vides ou contenant déjà une génération nouvelle de globulins ;

» 4° *Tissu filamenteux* ou *tubuleux* lorsque les globulins, au lieu de se vésiculer, se filent ou se tubulisent (1). »

Ce sont ces idées purement hypothétiques et tombées dans l'oubli que MM. Fremy, Trécul, Béchamp, H. Hoffmann, Hallier, etc... voudraient faire revivre de nos jours et opposer à la théorie si claire, si bien appuyée par les faits, des germes en suspension dans l'air ou répandus à la surface des objets, des fruits, des bois morts ou vivants, etc...

---

(1) Pour la formation des levûres des fruits, voici l'application que Turpin faisait de sa théorie (t. XVII, p. 155, des *Mémoires de l'Académie*, 1840, où l'on trouve également la citation du texte, à la page 171).

Levûres produites par le jus filtré de la pulpe de divers fruits.

« Par le mot *pulpe*, on entend le tissu cellulaire charnu, mou et aqueux du sarcocarpe ou mésocarpe du péricarpe de certains fruits mûrs. Ce tissu cellulaire, très-abondant dans la pêche et tous les fruits à noyaux, dans la pomme et dans la poire, dans l'orange, dans le raisin, etc., est le même que celui, souvent si mince, qui forme l'épaisseur d'une feuille. Composé partout d'une simple agglomération de vésicules maternelles contiguës, toujours remplies de globulins plus ou moins développés, plus ou moins colorés, doués individuellement d'un centre vital particulier, il n'est pas étonnant que ces globulins, une fois libres et isolés de l'organisation composée et de la vie d'association du végétal, puissent, étant placés dans un milieu convenable, végéter et se transformer, sous ces nouvelles influences, en une mucédinée filamenteuse et articulée.

» Ce sont ces globulins si ténus et par conséquent si transparents qui, lorsqu'on les abandonne dans leur eau sucrée, croissent, deviennent vésiculeux en produisant d'autres globulins dans leur intérieur, germent ensuite, végètent en filaments mucédinés, décomposent le sucre et sont la cause de tous les effets qui constituent ce que l'on appelle la *fermentation alcoolique*. »

M. Béchamp croit avoir observé que la mère de vinaigre introduite dans divers liquides sucrés, en présence du carbonate de chaux, engendre des bactéries qui produisent avec le sucre ou la fécule des acides butyrique, lactique et acétique ; que cette même mère de vinaigre, sans addition de carbonate de chaux, « engendre, au contraire, de belles cellules opérant la fermentation alcoolique normale du sucre de canne ». D'ailleurs, M. Béchamp pose cette hypothèse que la mère de vinaigre est un conglomérat de microzymas, et, comme il ne voit pas que dans ses expériences, dont je viens de rappeler les conclusions, l'origine des bactéries ou des cellules de levûre provient d'ensemencements spontanés qui n'ont aucun lien avec la présence de la mère de vinaigre sur laquelle il opère, il arrive à cette conclusion : « Dans les expériences que je viens de résumer, les choses se sont passées comme si le microzyma, certaines conditions favorables étant données, était le facteur et des bactéries et des cellules (1). »

Les expériences suivantes ont eu pour objet l'étude de ces prétendues transformations du *mycoderma aceti*, dans les liquides sucrés, en présence ou en l'absence du carbonate de chaux.

On prépare des ballons à deux cols, renfermant pour liquide de culture un mélange de $\frac{1}{3}$ vinaigre d'Orléans et $\frac{2}{3}$ d'un vin blanc dont se servent dans cette ville les fabricants de vinaigre. Ce mélange est très-propre au développement du *mycoderma aceti*.

Le 13 décembre 1872, on sème la petite plante à l'état pur à l'aide d'un bout de fil de platine, comme cela a été expliqué précédemment pour d'autres ensemencements de diverses moisissures. Le 19 décembre, un voile jeune, mince, de *mycoderma aceti* couvre la surface du liquide. Alors on vide le liquide par la tubulure droite pendant qu'on chauffe la courbure supérieure du tube sinueux, afin de purifier l'air qui rentre dans le ballon.

(1) Béchamp, *Recherches sur la nature et l'origine des ferments* (*Annales de Chimie et de Physique*, 4e série, t. XXIII, et *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 23 octobre 1871).

Quant au voile de *mycoderma aceti*, il reste entièrement appliqué contre les parois intérieures du ballon pendant ce transvasement. Comment porter maintenant ce voile de la petite plante dans un liquide sucré de telle ou telle nature? On y parvient aisément par l'artifice suivant. Après avoir vidé le ballon comme on vient de le dire, au lieu de refermer le tube de caoutchouc qui est à l'extrémité de la tubulure droite, on le joint à un matras d'essayeur qui contient le liquide sucré sur lequel on veut opérer, liquide qu'on vient de faire bouillir dans ce même matras et qui est encore très-chaud au moment où l'on introduit la tubulure un peu effilée et courbée du matras dans le tube de caoutchouc. On laisse refroidir le liquide dans son matras puis, soulevant ensuite ce dernier, on fait écouler le contenu du matras dans le ballon où, comme je l'ai dit, est resté le voile de *mycoderma aceti*, qui se trouve ainsi submergé en partie et en partie répandu à la surface du nouveau liquide. J'ai opéré sur deux liquides sucrés, le moût de raisin et le moût de bière. Avec le moût de bière, dès le 22, le voile de *mycoderma aceti* s'étend sur toute la surface du liquide et grimpe même sur les parois humides du ballon, au delà du niveau. Sur le moût de raisin, au contraire, il semble que la plante n'a pas encore repris son développement; mais, le 24 décembre, elle s'étend visiblement à la surface de ce moût. Les jours suivants, j'agite fréquemment les voiles pour les disloquer et les répandre dans les liquides sous-jacents. La fermentation alcoolique ne se déclare pas.

Le 30 décembre, je fais passer dans chacun des ballons plusieurs grammes de carbonate de chaux, ce qui est facile par une manipulation analogue à celle de tout à l'heure. A cet effet, on remplace le matras d'essayeur par un autre, ou mieux par un simple tube de verre contenant le carbonate de chaux qu'on chauffe fortement dans ce tube où on le laisse refroidir et, après le refroidissement, on renverse la poudre de carbonate de chaux dans le liquide du ballon. De cette manière, le carbonate de chaux n'apporte aucune cause d'erreur, aucun germe étranger.

Ni dans un cas, ni dans l'autre, je n'ai obtenu la fermen-

tation alcoolique, non plus que la fermentation lactique, ni bactéries, ni vibrions proprement dits. Les ballons sont restés à l'étuve, vers 25°, jusqu'à la fin de janvier 1873, époque à laquelle on a fait une étude microscopique de leurs dépôts, plus attentive et plus complète que celles qui avaient eu lieu de temps à autre pendant le cours des expériences pour s'assurer de la nature des productions (1). On n'y a trouvé encore que du *mycoderma aceti* qui s'est même développé, quoique très-péniblement, à la surface des liquides rendus neutres par le carbonate de chaux. Ses articles avaient seulement pris, dans cette dernière circonstance, un volume un peu plus gros que dans les liquides acides non sucrés.

Le *mycoderma aceti*, cultivé sur des liquides sucrés acides ou neutres, en l'absence ou en la présence du carbonate de chaux, n'éprouve donc aucune transformation en bactéries ou vibrions ni en levûre de bière, à la seule condition d'opérer avec une semence pure, à l'abri des germes en suspension dans l'air ou de ceux que les vases et les matériaux employés peuvent apporter à l'insu de l'observateur. Est-ce à dire que je récuse d'une manière absolue le polymorphisme du *mycoderma aceti?* Je l'ai cherché, au contraire, à maintes reprises. J'ai cherché principalement le polymorphisme physiologique, c'est-à-dire, si le *mycoderma aceti* n'était point, par exemple, la moisissure aérobie d'un ferment qui en différerait physiologiquement, entre autres de la levûre lactique dont les analogies de formes avec le *mycoderma aceti* sont quelquefois frappantes. Je n'ai rien trouvé jusqu'ici.

Ce que je récuse, au sujet de ce mycoderme, d'après des preuves positives, ce sont les polymorphismes, admis par M. Béchamp et par d'autres auteurs, qui ne reposent, suivant moi, que sur des observations incomplètes et erronées.

---

(1) Je n'ai pas besoin d'ajouter, parce que je l'ai fait antérieurement, que, toutes les fois qu'on ouvre les ballons pour y faire des prises, on se sert d'un tube fin, préalablement passé dans la flamme de la lampe à alcool et que la flamme est passée également à la surface du caoutchouc; à la surface du bouchon de verre, etc... pour brûler les poussières organiques qui pourraient voltiger et s'introduire au moment où l'on débouche la tubulure droite du ballon.

§ IV. — Culture du mucor racemosus a l'état de pureté. — Exemple de vie plus active et plus durable hors de l'influence de l'air.

Rapprochée des faits que j'ai exposés dans les paragraphes précédents, la culture des espèces du genre *mucor* dans les liquides sucrés naturels ou artificiels est une des plus instructives pour l'établissement de la théorie physiologique de la fermentation que j'exposerai ultérieurement. Il existe au sujet de cette mucédinée un travail fort remarquable d'un botaniste allemand, M. Bail, qui, en 1857, annonça que le *mucor mucedo* provoquait la fermentation alcoolique et pouvait se transformer en levûre de bière ordinaire. La première assertion, celle d'une fermentation alcoolique par cette moisissure si abondamment répandue partout, est très-exacte; la seconde, à savoir, que cette moisissure peut se transformer en levûre de bière, ne l'est pas (1).

---

(1) Ainsi que je l'ai déjà rappelé précédemment à la page 92, dès l'année 1861, je me suis occupé de cette question de la transformation possible des moisissures vulgaires, notamment du *penicillium* et du *mucor mucedo*, en levûre de bière et de la question inverse. Je suis arrivé à un résultat négatif. Mon travail, lu devant la Société philomathique, dans sa séance du 30 mars 1861, n'a été publié que dans ses conclusions. Voici l'extrait du bulletin de cette Société pour l'année 1861.

« *Séance du* 30 *mars* 1861. — On a entendu dans cette séance la lecture d'une Note de M. Pasteur, intitulée : *Sur les prétendus changements de formes et de végétation des cellules de levûre de bière suivant les conditions extérieures de leur développement*. On sait que Leuwenhoeck a décrit le premier les globules de la levûre de bière et que M. Cagnard-Latour a découvert leur faculté de se multiplier par bourgeonnement. Cette production végétale si intéressante a été le sujet d'une foule de travaux de la part des chimistes et des botanistes. Ces derniers, depuis MM. Turpin et Kutzing, ont été à peu près unanimes à regarder la levûre comme une forme de développement de divers végétaux inférieurs, notamment du *penicillium glaucum*. Les études à ce sujet qui paraissent avoir eu le plus de faveur dans ces dernières années appartiennent à MM. Wagner, Bail, Berkeley, H. Hoffmann. Les recherches de ces botanistes ont paru agrandir et confirmer les observations anciennes de MM. Turpin et Kutzing. Tout récemment M. Pouchet a émis les mêmes idées, en les précisant même sur certains points.

» Je me suis occupé depuis longtemps de cette importante question qui touche de si près à la nature intime de la levûre de bière et à ces phénomènes de poly-

Le 13 juin 1872, je sème dans trois ballons à deux tubulures, A, B, C, contenant du moût de bière et toujours à l'aide de la pointe d'un fil de platine, trois ou quatre petits tubes porte-graines de *mucor* surmontés du sporange qui les termine.

Le 14, pas encore de mycélium apparent à l'œil nu, dans les liquides.

Le 15, mycélium très-abondant et soulevé par des bulles de gaz. En outre, à la surface du liquide, quelques rares îlots de bulles qui annoncent un commencement de fermentation.

Le 16, la fermentation continue de s'accuser par l'état spumeux des paquets de mycélium soulevés.

Le 17, j'unis séparément, comme l'indique la *fig.* 19, p. 101, les ballons B et C à des matras d'essayeur, puis je fais passer la presque totalité du contenu des ballons dans les matras ; dans ces derniers, au niveau des liquides, restent des paquets de tubes de mycélium enchevêtrés.

Le 18, une fermentation très-lente a commencé dans ces matras. Elle continue sans prendre plus d'activité les jours suivants. Une petite bulle s'élève lentement du fond du vase, puis est remplacée par une autre à court intervalle, et ainsi de suite. La température de l'étuve est 24°; on la porte à 28° le 22 juin. La fermentation devient plus vive : il s'élève continûment du

---

morphie des végétaux inférieurs auxquels se rattachent la plupart des travaux remarquables de M. Tulasne ; mais je suis arrivé à des résultats tout à fait négatifs : je veux dire qu'il m'a été impossible de voir la levûre de bière se transformer en une mucédinée quelconque, et réciproquement je n'ai pu arriver à faire produire aux mucédinées vulgaires la plus petite quantité de levûre de bière. »

J'ai communiqué les mêmes résultats devant la *Société chimique* de Paris, dans sa séance du 12 avril 1861.

Dans le travail dont je viens de rappeler les conclusions, j'ai insisté sur la nécessité des cultures faites à l'état de pureté, dans les recherches concernant les organismes inférieurs si l'on voulait en déduire des conclusions dégagées de toute incertitude, et j'ai donné pour y parvenir une méthode qui différait très-peu de celle que j'expose dans le présent Ouvrage. Depuis lors, ces cultures sont devenues tout à fait de rigueur, et les botanistes les plus habiles, M. de Bary, en Allemagne, M. Van Tieghem en France, ont imaginé des dispositifs peut-être aussi sûrs que ceux que j'emploie et mieux appropriés à l'étude du polymorphisme des espèces.

fond des matras plusieurs bulles rapides; mais c'est encore bien loin de l'allure d'une fermentation alcoolique par la levûre de bière.

Le 25, même état de la fermentation qui est plutôt ralentie qu'activée.

Le 28, température 25°. Fermentation arrêtée.

Le 29, je reporte la température à 27°, et une légère reprise dans la fermentation se manifeste.

L'élévation de la température, comme on devait s'y attendre, influe donc sensiblement sur ce genre de fermentation. On laisse les vases abandonnés à eux-mêmes, et, pendant trois mois, ils ne donnent plus le moindre signe de fermentation. En outre, on ne voit apparaître, dans les ballons ni sur leurs parois intérieures, ni à la surface ou dans le liquide des matras, aucune moisissure, aucune production organisée quelconque étrangère au *mucor*.

Même observation pour le vase A, dont le liquide resté dans le ballon est rempli d'un mycélium gélatineux et spumeux.

Le 20 octobre 1872, après un intervalle de trois mois et demi, je fais repasser le liquide du matras uni au ballon C dans ce même ballon; je ne touche pas au matras du ballon B que je laisse à côté des premiers vases pour servir de témoin.

Les 21, 22, 23 octobre, rien d'apparent; mais, les jours suivants, des îlots de bulles se montrent à la surface du liquide du ballon C, et des paquets de mycélium sont soulevés par des bulles de gaz qu'ils emprisonnent : la vie a repris son cours, et avec elle la fermentation.

D'où provient cette modification dans l'état du liquide après un repos absolu de trois mois? Il n'y a qu'une réponse possible à cette question, car on remarque que dans les vases témoins tout est sans mouvement et sans vie apparente. Il y a eu évidemment aération de la plante après le transvasement, par l'atmosphère du ballon, lequel communique avec l'air extérieur par son tube recourbé. Cette aération était nulle ou insensible auparavant, parce que le liquide était en grande épaisseur dans le matras, qu'il y avait au niveau un amas de tubes de mycélium qui s'opposait à toute aération de ce liquide, et que,

dans le goulot étroit du matras, la surface du liquide devait être couverte d'une atmosphère de gaz carbonique. Suivons l'influence de cette aération et de la reprise de la vie qu'elle a provoquée dans le mycélium du *mucor*, en replaçant le liquide en épaisseur, afin de supprimer de nouveau l'action de l'air.

A cet effet, le 31 octobre, je transvase le liquide et son dépôt du ballon dans le matras. Le soir, une fermentation faible, mais continue, avec formation de mousse, se manifeste au niveau du liquide dans le goulot du matras. Les jours suivants et jusqu'au 20 décembre, la fermentation ne s'arrête pas, quoique toujours faible. Elle cesse complétement d'être accusée par un dégagement gazeux, du 20 au 23 décembre. Quant au ballon B, pendant tout cet intervalle de temps, il n'a pas donné signe de mouvement et est resté pareil à ce qu'il était depuis le 29 juin, quoique pendant plusieurs jours l'étuve eût atteint 28°.

Le 23 décembre 1872, voulant m'assurer de l'état de la plante dans ce ballon B, je lui fais subir la même opération à laquelle a été soumis, le 20 octobre, le ballon C, c'est-à-dire que je fais passer le contenu du matras dans son ballon afin de fournir de l'oxygène à la plante.

Les 24 25, 26, 27 décembre, rien d'apparent.

Le 28, des bulles de gaz commencent à soulever des paquets de mycélium au niveau du liquide. Le repos n'existait donc dans le matras du ballon B que parce qu'il était privé d'air, comme cela avait eu lieu pour le matras du ballon C, jusqu'à la date du 31 octobre.

Ce jour, 28 décembre, je fais passer de nouveau le contenu du ballon dans son matras, et les jours suivants la fermentation se déclare, faible, mais continue. Le 22 janvier, elle dure encore quoique très-lente : on le voit, ce sont rigoureusement les effets auxquels a donné lieu le ballon précédent C (1).

(1) J'ai constaté qu'après une année nouvelle écoulée, en décembre 1873, la levûre de *mucor* du matras était encore parfaitement rajeunissable, propre à se multiplier soit en tubes à conidies, soit en cellules-boules dans le moût de bière et à en provoquer la fermentation plus ou moins active ou restreinte, suivant les con-

Notons sans plus tarder que, dans les ballons A, B, C, on a fait des prises à diverses époques, du mois de juin au mois de janvier, et que, dans aucun cas, le microscope n'a accusé la moindre trace de levûre de bière. Notons encore que, dans cet intervalle, on a ensemencé de nouveaux ballons à moût de bière avec des prises faites dans les dépôts des ballons A, B, C et que toujours on a reproduit le *mucor* et son genre de fermentation sans la moindre apparence de levûre ordinaire.

Les conséquences des résultats que nous venons d'exposer sont d'un grand intérêt et faciles à déduire. Faisons observer tout d'abord que, si le *mucor mucedo* peut produire la fermentation alcoolique, il est tout à fait incapable de se transformer en levûre de bière. Ces deux plantes doivent être profondément distinctes, et, si divers auteurs les ont obtenues mêlées l'une à l'autre dans des cultures de *mucor*, c'est sans nul doute parce qu'il y a eu ensemencement spontané de la levûre de bière dont les germes sont abondants, particulièrement dans les poussières de l'atmosphère de tout laboratoire où l'on fait des études relatives à la fermentation.

Toutefois, ce n'est point là la conséquence la plus intéressante des faits que nos cultures nous ont présentés. Le *mucor* est évidemment une plante tout à la fois aérobie et anaérobie. J'aurais semé les têtes des tubes porte-graines du *mucor* sur des tranches de poire, de citron, etc., que j'aurais vu les spores germer, pousser des tubes de mycélium à la surface du substratum et reproduire des tubes fructifères aériens. Dans ce cas, la plante effectue tous les actes de sa nutrition en absorbant de l'oxygène gazeux et en dégageant de l'acide carbonique (à

---

ditions d'aération, capable enfin de reproduire tous les phénomènes qu'on vient de décrire. C'est grâce à la méthode de culture que j'emploie qu'une étude, ainsi prolongée pendant des années, peut avoir lieu, sans qu'on ait à craindre le moindre mélange des moisissures étrangères, dans des vases qui sont cependant ouverts et où l'air extérieur se renouvelle sans cesse par diffusion et par les variations de la température. En 1875, tout était mort dans le ballon. Plus de rajeunissement possible.

la manière des animaux) comme j'ai fait voir que cela arrive pour les moisissures en général, dans mon Mémoire concernant les corpuscules organisés qui existent en suspension dans l'atmosphère; il n'y a de sucre détruit qu'une quantité équivalente à celle qui est assimilée pour faire la cellulose des jeunes tissus de la moisissure ou pour entrer en copulation, soit avec les éléments de l'ammoniaque, soit avec le soufre des sulfates, le phosphore des phosphates, et former les matières albuminoïdes de l'intérieur des cellules (1). Dans ces conditions, le sucre ne fournit pas d'alcool, ou du moins, s'il s'en forme, il est brûlé tout aussitôt. Toutes les moisissures aériennes se comportent de la même manière. La nutrition et la vie de tous les grands êtres sont du même ordre.

Telle n'est pas dans nos ballons la vie de la petite plante. Privée d'oxygène ou n'en ayant à sa disposition, après une vie active au contact de l'air, qu'une quantité insuffisante, elle peut encore vivre hors de l'action directe de cet élément et des combustions qu'il provoque; mais alors on voit apparaître tous les signes de la fermentation alcoolique, c'est-à-dire que du sucre en proportion notable, relativement au poids de matière solide assimilée et fixée par la plante, se décompose en alcool et gaz acide carbonique, décomposition qui continue tant que la vie continue elle-même dans les cellules submergées; cette dernière condition est réalisée après que le liquide et son dépôt sont transvasés dans le matras d'essayeur. La fermentation cesse d'une manière absolue ou du moins elle ne s'accuse plus extérieurement, tant elle devient insensible, lorsque toute activité vitale disparaît dans les cellules qui se montrent alors vieilles, usées, déformées dans leurs contours et pleines de granulations; mais, si la vie est suspendue, elle n'est pas éteinte : ce n'est qu'une mort apparente. Vient-on à rendre à la plante de l'oxygène et à lui permettre de vivre encore sous

(1) Je fais ici abstraction des phénomènes de combustion dont les moisissures sont le siége, et qui rappellent ceux que nous offrent à un si haut degré les *mycoderma vini* et *mycoderma aceti*.

l'action de ce gaz, la végétation reprend et devient susceptible d'entretenir de nouveau la fermentation, même à l'abri de l'air pendant un certain temps.

L'oxygène s'offre donc à nous comme doué d'une force impulsive pour les actes nutritifs qui peuvent ensuite se prolonger hors de son influence, mais l'énergie qu'il a communiquée à la vie des cellules s'use progressivement. Alors aussi la fermentation s'arrête pour reprendre de nouveau si l'action de ce gaz vient à provoquer une vie nouvelle. On dirait que l'énergie vitale empruntée à l'influence de l'oxygène gazeux est capable d'entraîner l'assimilation de l'oxygène non plus gazeux, mais déjà engagé dans des combinaisons et d'où résulterait la décomposition du sucre. A envisager les choses de cette manière, je crois qu'il y a là un fait général et que, chez tous les êtres vivants, on retrouverait cette manière d'agir de l'oxygène et des cellules. Quelle est la cellule qui, asphyxiée tout à coup par privation d'air, périrait sur-le-champ et d'une manière absolue? Il n'en existe probablement d'aucune sorte ayant ce caractère. Des modifications plus ou moins profondes, la continuation des assimilations et des désassimilations qui ont lieu pendant la vie, doivent se poursuivre après la suppression du gaz oxygène, et il doit en résulter des fermentations obscures et peu actives en général, mais qui, chez les cellules des ferments proprement dits, auraient une intensité et plus grande et plus durable.

Comparons le poids d'alcool formé dans la fermentation par le *mucor* au poids de la plante correspondante.

Première expérience. — On avait primitivement du moût de bière d'un volume de 120^{cc} placé dans un de nos ballons à deux cols. Le 2 janvier 1873, conformément au dispositif de la *fig.* 19 (p. 101), on a joint ce ballon à un matras contenant un dépôt de levûre de *mucor*, dont on a fait passer quelques gouttes dans le moût du ballon pour l'ensemencer. Le 3 janvier, on fait repasser le moût du ballon dans le matras. Nous savons que dans ces conditions le moût entre en fermentation. Le 18 janvier, la fermentation cesse dans le matras. Le 31 juil-

let 1873, on fait passer le liquide du matras dans le ballon. Le 4 août 1873, on fait repasser ce même liquide du ballon dans le matras. Le 25 décembre 1873, on fait de nouveau repasser le liquide du matras dans le ballon, où il reste jusqu'au 23 décembre 1874, jour où on l'étudie ; il contient par 100^cc^ :

	gr
Poids total de la moisissure	0,37
Alcool absolu	3,3
Acide évalué en équivalent d'acide sulfurique	0,11
Sucre réducteur de la liqueur cuivrique	5,2
Dextrine?	1,6

Le poids total de la moisissure étant de 0,37 et le poids total de l'alcool absolu pour les 120^cc^ de liquide fermenté étant de 4^gr^, c'est 10 à 11 fois plus d'alcool en poids que de moisissure.

Deuxième expérience. — Le 13 juin 1872, semence de deux ou trois têtes de sporanges de *mucor* dans du moût de bière d'un de nos ballons à deux tubulures. Température de l'étuve 23° à 25°. Volume total du liquide, 120^cc^.

Le 15, mycélium développé et soulevé.

Le 16, îlots de bulles de fermentation sur toute la surface du liquide.

Le 17, on fait passer le liquide dans un matras d'essayeur joint au ballon.

Le 28, la fermentation s'arrête dans le matras.

Le 29, elle reprend, parce qu'on a élevé la température à 27°.

Le 20 octobre on fait repasser le liquide du matras dans le ballon.

Le 24, mycélium développé et soulevé par de grosses bulles à la surface du liquide dans le ballon.

Le 31 octobre, on le transvase de nouveau dans le matras.

Le 1^er^ novembre, fermentation faible, mais bien continue.

La fermentation dure jusqu'au 2 janvier 1873.

Ce jour-là, on fait repasser le liquide et le dépôt du matras dans le ballon où il paraît inerte. On l'a laissé dans ce ballon jusqu'au 24 décembre 1874 sans qu'il ait manifesté, pendant ce

long intervalle de temps, aucun signe de fermentation ni de développement de sa moisissure.

On l'analyse alors et l'on trouve, par 100^{cc} :

	gr
Poids total de la moisissure	0,25
Alcool absolu	3,4
Acide évalué en équivalent d'acide sulfurique	0,12
Poids de sucre réducteur de la liqueur cuivrique	6,2
Poids de sucre réducteur après traitement à l'ébullition par l'acide sulfurique et après défalcation du sucre réducteur qui précède. Dextrine (?)	1,0

Le poids total de l'alcool absolu pour les 120^{cc} du liquide fermenté était de $4^{gr},1$, ce qui fait 16 à 17 fois plus d'alcool que de plante.

La structure de la plante diffère notablement quand elle vit entourée d'air ou lorsqu'elle est privée de ce fluide d'une manière plus ou moins complète. Si elle a à sa disposition de l'air à profusion, si elle végète à la surface d'un corps humide ou dans un liquide dont l'air en dissolution peut se renouveler sans être éliminé incessamment par du gaz acide carbonique, on voit se former une moisissure ordinaire avec mycélium à tubes plus ou moins grêles, rameux et enchevêtrés et qui émettent à la surface du liquide des organes de fructification aériens. Tout le monde connaît cette forme de végétation des *mucor* vulgaires. Fait-on vivre, au contraire, le *mucor* dans un liquide sucré avec insuffisance d'air, au moins pour quelques-unes de ses parties, la végétation change complétement comme nous l'avons vue changer pour le *penicillium,* l'*aspergillus* et le *mycoderma vini* submergé, avec cette différence que, pour le *mucor,* les changements dont il s'agit et l'activité de la nutrition dans ces conditions nouvelles sont bien plus prononcés que pour ces derniers organismes. Les spores grossissent davantage, les tubes du mycélium qui en sortent sont beaucoup plus forts que dans la plante normale ; ces tubes poussent de distance en distance d'autres tubes qui se détachent et vont végéter à côté, se termi-

nant ou s'interrompant par des chaînes de grosses cellules, espèces de spores qui peuvent vivre en bourgeonnant et en reproduisant des cellules semblables à elles-mêmes ou qui s'allongent en tubes.

La *Pl. V* correspond à la plante vivant submergée, mais peu profondément, et ayant encore à sa disposition, par conséquent, une certaine quantité d'air, insuffisante toutefois pour que l'oxygène préside à tous les actes de la nutrition. On y voit le *mucor* morphologiquement très-différent de ce qu'il est au libre contact de l'air, sous forme de tubes courts, d'un diamètre double et triple de celui des tubes de son mycélium ordinaire, tubes rameux et tout bourgeonnants et caractérisés surtout par des branches de chaînes de cellules tantôt sphériques, tantôt ovales ou en formes de poires qui sont de véritables spores; car, à peine détachées, elles bourgeonnent à leur tour en reproduisant, soit des cellules, soit des tubes rameux : ce sont ces cellules ou les chapelets qu'elles constituent qu'on désigne sous le nom de *spores mycéliennes* ou *conidies*. La Planche rend très-fidèlement ces divers aspects et donne bien une idée de l'état luxuriant de cette remarquable végétation.

La *Pl. VI* représente la vie de la plante plus submergée, plus privée d'air, dépensant à l'aide du sucre, comme source de chaleur, l'énergie qu'elle vient d'acquérir en végétant sous l'influence de l'oxygène de l'air. Les tubes sont moins nombreux, d'aspect plus vieilli; la proportion des formes celluleuses est plus grande que dans le premier cas ; le bourgeonnement reproduit de préférence des cellules sphériques ou ovales. Sur une même cellule on voit souvent deux, trois, quatre, cinq, six bourgeons et même davantage.

Lorsque les bourgeons des cellules ovales ou sphériques se détachent encore jeunes, ils ont souvent la forme et le volume des cellules de la levûre ordinaire; une grande habitude de ce genre d'observation ne suffirait pas toujours à les distinguer et l'on comprend facilement qu'on ait pu croire, avec l'habile botaniste D[r] Bail, à la transformation du *mucor* en levûre de bière.

Sous les formes que figurent les *Pl. V* et *VI*, la plante est plus ferment que moisissure. C'est alors que le poids du sucre décomposé, corrélativement à la formation d'un poids déterminé de cellules-boules, est très-supérieur à ce dernier poids et cet effet est d'autant plus marqué que la plante a moins d'air à sa disposition. Mais, dans ces dernières conditions, la végétation est lente, pénible, et le ferment vieillit très-vite ; il faudrait, par le contact et l'action de quantités limitées d'oxygène, rajeunir sans cesse les cellules-boules pour entretenir leur végétation et prolonger leur activité comme ferment. C'est l'effet que nous déterminions quand nous faisions repasser le liquide et son dépôt du matras dans le ballon. Le liquide et son dépôt de *mucor* se trouvaient par cet artifice mis au contact de l'air. On voit alors les cellules primitivement vieilles, brunes et fortement granuleuses, se gonfler, devenir plus transparentes, se remplir d'un protoplasma gélatineux, à granulations très-peu visibles, qui ont néanmoins quelque chose de brillant quand on réussit à les distinguer ; enfin le bourgeonnement est très-actif. Sous l'influence de ce rajeunissement, la vie peut continuer de nouveau à l'abri de l'air, quoique plus pénible, de telle sorte que la fermentation serait la plus intense possible si, incessamment, les gros tubes et leurs conidies recevaient l'action de l'air, puis la perdaient pour la reprendre, et ainsi de suite.

En plusieurs points, les Planches précédentes montrent ce rajeunissement des vieilles cellules de la levûre de *mucor*.

On a omis de figurer, parmi les vieilles cellules, des cellules qui ont leurs granulations rassemblées vers le centre avec une plage vide entre les granulations et les enveloppes extérieures (1). A cet état, les cellules sont le plus souvent mortes, incapables de tout rajeunissement. Il est impossible de n'être pas frappé des puissantes analogies qui existent entre tous ces faits et ceux que présentent les cellules de levûre de bière.

---

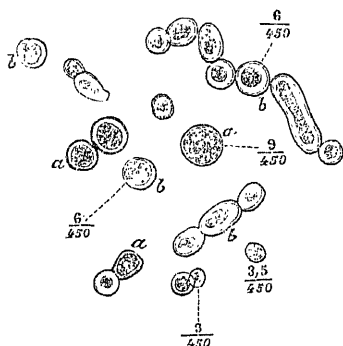
(1) La figure ci-jointe comble cette lacune. Les cellules isolées ou en chaînes *b*, *b*,..., *b*..., montrent cet état des vieilles cellules dont je parle. Les *a*, *a*,... sont moins vieilles et plus facilement rajeunissables. Par les dimensions de quelques-unes,

Je ne saurais trop faire remarquer de nouveau, en terminant cette étude sur la végétation du *mucor* moisissure et du *mucor* ferment, qu'il y a également les plus frappantes analogies entre les observations précédentes et celles que nous ont offertes le *penicillium*, l'*aspergillus* et le *mycoderma vini*. Ces dernières plantes n'ont pas fourni d'alcool ni de gaz carbonique par fermentation directe du sucre, tant que nous les avons fait végéter avec beaucoup d'air à leur disposition ; mais, une fois submergées, leur vie a été différente, il y a eu tendance, d'une part, à un plus grand volume des cellules ou des tubes des myséliums, d'autre part, tendance également au cloisonnement plus rapproché dans ces derniers tubes, par suite transition à l'état de conidies. Enfin et corrélativement, bourgeonnement des cellules avec formation d'alcool et dégagement de gaz acide carbonique, tous les signes ordinaires, par conséquent, de la fermentation alcoolique.

La principale différence avec le *mucor* a consisté en ce que, pour ce dernier, dans les conditions d'une aération insuffisante

---

on voit combien, dans certains cas, les cellules de *mucor* se rapprochent des cellules de la levûre de bière. Néanmoins, dans l'état du contenu et l'aspect du con-

Fig. 23.

tour, il y a toujours des différences assez appréciables qui frappent l'observateur exercé.

Les fractions inscrites près des cellules indiquent des fractions de millimètre.

ou nulle, l'étendue et la durée de la végétation ont été plus prononcées.

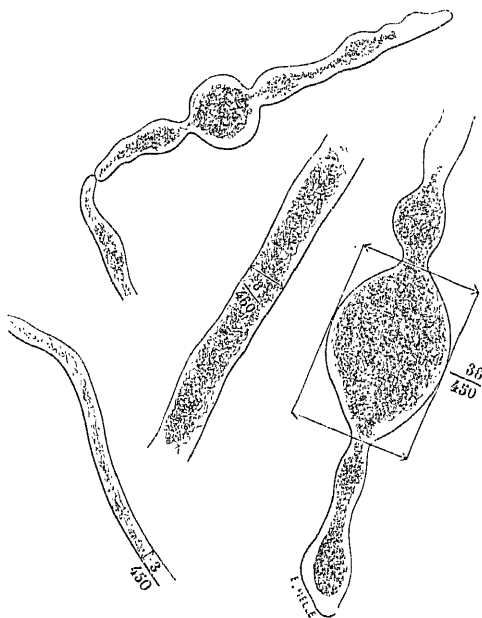
On pourrait croire que toutes les variétés de *mucor* sont propres à donner le genre de levûre dont nous venons de parler. Il n'en est rien. C'est encore une preuve frappante des différences physiologiques profondes que peuvent offrir des formes de végétation pourtant si voisines que les classifications botaniques sont contraintes de les rapprocher autant qu'il est possible. Déjà les *mycoderma vini* et les levûres alcooliques proprement dites, si semblables de formes et de développements qu'on les jugerait identiques, au moins dans l'état de nos connaissances, et si différents physiologiquement, donnent de ce fait un exemple extraordinaire.

Le 17 novembre 1873, je trouve sur une poire recouverte d'une cloche de verre un *mucor mucedo* d'une grande beauté. C'était un amas de tubes parfaitement droits, simples, isolés, relativement très-gros et terminés chacun par un sporange identique à celui du *mucor mucedo*, mais également volumineux. On sait que le *mucor racemosus* ne se distingue du *mucor mucedo* que par cette circonstance qu'on observe sur ses porte-sporanges des branches latérales, également terminées par un sporange.

Je semai une seule des têtes terminales des gros tubes verticaux dans du moût de bière où elle donna promptement un mycélium abondant, mais sans la moindre apparence de gaz. Fort longtemps après, le 7 janvier 1875, j'étudiai les produits de cette culture qui était restée tout à fait pure, parce que je l'avais faite dans un de mes ballons à deux tubulures sur du moût de bière pur.

Le volume total du liquide, qui était de 130 centimètres cubes, contenait $2^{gr},3$ d'alcool. Malgré cette proportion assez considérable d'alcool, signe manifeste d'une fermentation accusée, la plante n'avait pas donné du tout de conidies, pas du tout de ferment en boules. Seulement, une partie des tubes du mycélium étaient plus gros que le restant et offraient des ren-

flements irréguliers, quelquefois énormes. Tandis que les tubes naturels du mycélium, par là j'entends les tubes de végétation du *mucor* qui disposent de beaucoup d'air, n'avaient que $\frac{3}{450}$ de millimètre de diamètre, les tubes qui avaient poussé vraisemblablement avec insuffisance d'oxygène et fonctionné à la manière des ferments mesuraient $\frac{8}{450}$ et les renflements jusqu'à $\frac{30}{450}$ de millimètre de diamètre, ainsi que l'indique la *fig.* 24.

Fig. 24.

Je dois signaler, en terminant ce paragraphe, un travail distingué sur la fermentation qui vient de nous occuper, dû au Dr Fitz et communiqué à la Société chimique de Berlin en 1873, cahier II, page 48, où l'auteur interprète ses observations d'une manière conforme à mes vues, comme le prouve le passage suivant du Mémoire dont je parle :

« En présence de l'oxygène, la levûre de *mucor* se développe donc en mycélium et brûle le sucre ; en l'absence de

l'oxygène au contraire, les spores se développent en levûre de *mucor* qui bourgeonne et dédouble le sucre dans les produits de la fermentation.

» Les propriétés du *mucor mucedo* dans un liquide fermentescible, en présence ou en l'absence de l'oxygène, s'accordent parfaitement avec la théorie de la fermentation établie par Pasteur en 1861 (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences* de Paris, t. LII, p. 1260). D'après cette théorie, un champignon de fermentation a besoin d'oxygène pour se développer; s'il trouve l'oxygène à l'état libre, il le prend tout en s'assimilant une partie du sucre et brûlant l'autre; s'il n'y a pas d'oxygène libre le champignon emprunte au sucre celui dont il a besoin. »

CHAPITRE V.

LES LEVURES ALCOOLIQUES.

§ I. — De l'origine de la levure.

Parmi les productions qu'on voit apparaître spontanément, ou pour mieux dire sans ensemencement direct, dans les liquides organiques exposés au contact de l'air, il en est une qui intéresse plus spécialement notre étude: c'est celle que son énergie, comme agent de décomposition, a fait distinguer et utiliser depuis les temps les plus reculés et qui est considérée comme le type des ferments; je veux parler de la levûre du vin, de la bière, et plus généralement de toutes les boissons fermentées.

La levûre est cette matière de consistance plastique, qui se dépose dans les cuves ou les tonneaux de moût de raisin ou de moût de bière en fermentation. Cette dénomination de levûre rappelle à l'esprit un fait physique vraiment extraordinaire. Qu'on prenne une parcelle de la substance pour la porter dans de l'eau sucrée, dans du moût de raisin, dans la pâte à faire le pain, qui contient toujours un peu de sucre : après un temps variable, souvent quelques minutes suffisent, on voit ces liquides ou la pâte se soulever pour ainsi dire. Le gonflement de la masse, dû à un dégagement de gaz acide carbonique, peut la faire déborder et sortir des vases qui la contiennent, si leur capacité n'est pas sensiblement plus grande que le volume des matières en fermentation. Chose non moins remarquable, ces phénomènes sont naturels et spontanés, c'est-à-dire que le moût du raisin, le moût de bière, la pâte de farine, peuvent se soulever comme on vient de le dire, quand on les abandonne

à eux-mêmes, sans la moindre addition de substances étrangères. La seule différence avec les circonstances dont nous venons de parler consiste en ce que l'apparition des phénomènes est retardée, parce que la levûre exige un certain temps pour se former avant qu'elle puisse agir, dans le cas où on ne l'introduit pas en nature dans les matières sucrées. Il faut, en effet, que le sucre soit présent pour que les phénomènes en question puissent se produire. On retirerait du moût de raisin, de la pâte de farine par un moyen quelconque, tout le sucre qui y est renfermé, sans toucher aux autres principes, que l'addition de la levûre ne donnerait pas de gaz. Tout resterait au repos jusqu'au moment où se montreraient les signes d'une putréfaction plus ou moins avancée. La levûre est une des substances les plus putrescibles, et il est digne de remarque que son altération est également la conséquence de la formation d'une ou de plusieurs levûres, mais fort différentes de celle qui nous ocupe. Quant à la nature de la levûre, le microscope nous en a instruits. Ce merveilleux instrument, quoique encore dans son enfance, permit à Leuwenhoeck, à la fin du XVII[e] siècle, de reconnaître que la levûre est composée d'un amas de cellules. En 1835, Cagnard-Latour et Schwann reprirent les observations de Leuwenhoeck, à l'aide d'un microscope plus perfectionné, et ils découvrirent que ces mêmes cellules végètent et se multiplient par bourgeonnement. Dès lors les phénomènes physiques et chimiques précédemment énoncés, soulèvement de la masse, dégagement d'acide carbonique, formation d'alcool, apparurent comme des actes probablement liés à la vie d'une petite plante cellulaire. Les recherches ultérieures ont confirmé cette manière de voir.

Quand on délaye une parcelle de levûre dans un moût sucré, il faut se représenter qu'on y sème une multitude de petites cellules vivantes qui sont comme autant de graines propres à végéter avec une rapidité extraordinaire dans un milieu approprié à leur nutrition. Le phénomène peut se passer à toutes les températures comprises entre zéro et 55°, quoique les températures de 15° à 30° soient généralement les plus favorables.

Au sujet de la rapidité du bourgeonnement, l'observation suivante nous en donnera une idée précise pour une des levûres du moût de raisin naturel. La température était de 12 à 13°.

« Le 12 octobre 1861, à 10^h du matin, j'écrase des raisins sans filtrer le jus qui s'en écoule; puis, de temps à autre, dans la journée, j'étudie ce jus au microscope, jusqu'au moment où je distingue un couple de cellules. A 7^h du soir seulement, j'en découvre un que j'ai représenté (*fig.* 25, *a*). Dès

Fig. 25.

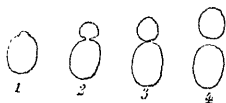
ce moment, je ne quitte plus de l'œil ces cellules soudées. A 7^h 10^m, je les vois séparées et un peu éloignées l'une de l'autre (*fig.* 25, *b*). De 7^h à 7^h 30^m, je vois naître et grossir peu à peu, sur chacune de ces cellules, un très-petit bourgeon. Ces bourgeons se sont développés à très-peu près au point de suture, là où la disjonction venait d'avoir lieu. A 7^h 45^m, les bourgeons sont beaucoup plus volumineux (*fig.* 25, *c*). A 8^h, ils ont atteint le volume des cellules mères. A 9^h, chaque cellule de chaque couple a poussé un bourgeon nouveau (*fig.* 25, *d*). A partir de ce moment, je n'ai plus suivi la multiplication des cellules. On voit qu'en deux heures deux globules en avaient fourni huit, en y comprenant les deux globules mères (1). »

Une pareille multiplication, qui eût été bien plus rapide de 15° à 25°, et surtout de 25° à 30°, a lieu de surprendre. Ce n'est rien encore. En choisissant les conditions de température et de milieu, d'état et de nature de la levûre, il m'est arrivé quelquefois de voir le fond d'un vase se recouvrir d'un dépôt blanc de cellules de levûre dans l'intervalle de cinq à six heures seulement, après qu'on eut semé une quantité de levûre si petite

(1) Extrait d'une Note que j'ai insérée, en 1862, au *Bulletin de la Société chimique* de Paris.

qu'elle ne modifiait pour ainsi dire pas du tout la transparence du liquide contenu dans le vase après l'agitation de la masse. Cette rapidité de végétation fait souvenir de ces plantes exotiques dont la taille, dit-on, s'accroît de plusieurs coudées dans l'intervalle de vingt-quatre heures.

Le bourgeonnement commence sur la cellule par une simple protubérance, une sorte de petite bosse, comme dans la *fig.* 26, n° 1); la protubérance grossit en prenant une forme sphé-

Fig. 26.

rique ou ovale en même temps qu'il y a un rapprochement des points d'attache de la jeune cellule, une sorte d'étranglement (*fig.* 26, n° 2); la soudure se fait un peu plus tôt ou un peu plus tard, suivant les espèces (*fig.* 26, n° 3); il y a ensuite séparation des deux individus (*fig.* 26, n° 4); une même cellule donne lieu, dans certains cas, à plusieurs protubérances, et, par suite, à plusieurs cellules filles. Lorsqu'il n'y a qu'une seule protubérance ou bourgeon, on le voit naître ordinairement au gros bout et un peu de côté de la forme d'œuf que possèdent toujours plus ou moins les cellules de la plupart des levûres.

Certains auteurs ont prétendu que le mode de bourgeonnement que je viens de décrire et qui a été, je crois, formulé pour la première fois, par Mitscherlich, n'est qu'une illusion, que les cellules de la levûre se rompent, laissant échapper leur contenu granuleux, et que ce sont les granules épanchés qui viennent se fixer sur les cellules où ils grossissent en simulant des bourgeons ou cellules filles. Tout récemment encore cette erreur a revu le jour (1). Rien n'est moins admissible. Je comp-

(1) Schützenberger, dans l'ouvrage intitulé *des Fermentations*, d'après le Dr de Vauréal. Paris, 1875, p. 278.

terais le nombre des cellules de levûre que j'ai vues se rompre pendant dix années peut-être d'observations, où, pour ainsi dire, chaque jour, des milliers de ces cellules ont passé sous mes yeux. Ce déchirement des cellules est un fait des plus rares, qui s'explique toujours par quelque circonstance anormale dans laquelle la levûre s'est trouvée placée : c'est un accident mécanique et non un fait physiologique. On peut s'en convaincre aisément en faisant pousser de la levûre dans un moût sucré, filtré à limpidité parfaite, privé par conséquent de tout dépôt granuleux amorphe qui puisse tromper l'observateur. Les cellules bourgeonnent et se multiplient, sans qu'on rencontre la plus petite granulation, sans qu'il y ait la moindre apparence de cellules déchirées, sans qu'il y ait jamais toutes les tailles de cellules, depuis le point apercevable jusqu'à leurs dimensions les plus petites. Toutes les levûres alcooliques, tous les moûts fermentescibles se prêtent à cette observation si simple, devant laquelle ne peut tenir l'hypothèse que je combats.

La *Pl. VII* ci-jointe représente, dans sa moitié gauche, le champ d'une levûre au grossissement de 400 diamètres. C'est un amas de cellules disjointes comme elles le sont à la suite des fermentations, quand les aliments leur font défaut, et, pour l'espèce figurée, les unes à peu près sphériques, les autres ovales ou en cylindroïdes plus ou moins allongés. Après avoir délayé un peu de cette levûre, la grosseur d'une tête d'épingle dans du moût de bière, plaçons ce moût dans une petite cuvette à fond plat, peu profonde, de 1 décimètre carré de surface, à la température ambiante. Le lendemain, un fin dépôt blanc recouvrira le fond de la cuvette. Dessinons-le : on aura les formes de la moitié droite de la Planche, où l'on voit clairement que les cellules semées ont perdu leurs granulations intérieures en devenant plus translucides et en se remplissant d'un protoplasma gélatineux.

La différence principale entre les deux moitiés de la Planche consiste en ce que les cellules isolées et granuleuses dans la moitié gauche sont, à droite, plus gonflées, plus translucides

et munies de bourgeons que l'on voit à tous les états de développement, depuis ceux qui sont à peine naissants jusqu'aux cellules filles aussi volumineuses que les cellules mères. Ces bourgeons, après avoir grossi, se détachent et bourgeonnent à leur tour, de telle sorte que la figure offre probablement, tout à la fois, des cellules et des bourgeons de première, de deuxième de troisième génération... Dans la moitié droite, le protoplasma intérieur des cellules montre des plages circulaires ou vacuoles qu'on rend à volonté plus claires ou plus sombres que le restant de la cellule en déplacant un peu l'objectif du microscope. Ces plages sont dues à un retrait du protoplasma vers les parois. Elles se montrent fréquemment dans les cellules de la levûre quand la vie de celles-ci est au repos, que la nutrition est suspendue, auquel cas les cellules vieillissent, parce qu'alors elles vivent sur elles-mêmes, si l'on peut ainsi parler. Les vacuoles disparaissent promptement, au contraire, quand on introduit la levûre dans un milieu nutritif aéré.

Dans la levûre commerciale des brasseries, la plupart des cellules montrent une ou plusieurs vacuoles; mais placez un peu de cette levûre dans un moût aéré et suivez au microscope les modifications des cellules, vous assisterez, souvent en quelques instants seulement, à une sorte de turgescence, à une tension plus grande des parois qui semblent diminuer d'épaisseur et à une disparition complète des vacuoles. La matière gélatineuse intérieure se remplit en même temps de fines granulations à peine visibles, brillantes pour un certain foyer, et les protubérances commencent à se montrer. Le lendemain le bourgeonnement est déjà très-actif et les cellules de nouvelle formation ont une telle délicatesse d'aspect et de contour qu'elles se distinguent à peine sur le fond du champ du microscope. C'est alors aussi qu'il y a tendance à l'état rameux dans le bourgeonnement, état rameux qui est plus ou moins accusé suivant les sortes de levûres alcooliques, comme nous le verrons bientôt, et qui est porté au maximum pour chacune d'elles, quand le rajeunissement a lieu sur les cellules usées par le repos et le défaut d'aliments. Dans ce dernier cas, le

rajeunissement peut être de longue durée. Ce n'est pas ce qui arrive pour les cellules de la levûre commerciale dont le maniement a toujours lieu peu de jours après sa formation. C'est pourquoi j'ai pu dire tout à l'heure de ces cellules que souvent elles manifestaient, en quelques instants, les premiers signes de leur bourgeonnement.

Dans les lignes qui précèdent, j'ai supposé implicitement qu'il existe plusieurs sortes de levûres alcooliques. Ce fait est hors de doute; j'en ai donné des preuves incontestables, d'abord en 1862, au *Bulletin de la Société chimique de Paris,* plus tard, en 1864 et en 1866, dans une Note des *Comptes rendus* sur les maladies des vins et dans mes *Études sur le vin.* On sait d'ailleurs que les brasseurs distinguent depuis longtemps deux modes de fermentation, la fermentation haute et la fermentation basse et deux levûres correspondantes ; il est vrai qu'on croyait que les différences offertes par ces fermentations ont pour cause les différences des conditions dans lesquelles elles s'accomplissent et qu'on passerait de la levûre haute à la levûre basse ou inversement, en faisant agir la première à basse température ou la seconde à température élevée. Dans mes observations de 1862 que je viens de rappeler, j'ai reconnu que le moût de raisin donne lieu à plusieurs levûres ; que la levûre de bière haute ne se développe pas ou très-péniblement dans le moût de raisin, tandis que l'une des levûres du raisin pousse rapidement et abondamment dans le moût de bière ; qu'il est facile d'isoler la plus petite des levûres du raisin de ses congénères en soumettant à la fermentation le moût de raisin filtré ; enfin que les fermentations secondaires des vins restés doux fournissent une levûre remarquable, fort différente d'aspect des levûres de bière.

Je n'ai pas donné des noms spécifiques à ces diverses levûres, pas plus qu'aux autres organismes microscopiques que j'ai eu l'occasion d'étudier. Ce n'est pas indifférence pour la nomenclature, mais, outre que les fonctions physiologiques de ces petits êtres me préoccupaient exclusivement, j'ai toujours craint

d'attacher trop d'importance aux caractères extérieurs. Maintes fois j'ai constaté que des formes, en apparence distinctes, appartiennent souvent à une même espèce et que des formes semblables peuvent cacher des différences profondes. Nous aurons de ce fait des exemples nouveaux dans ce paragraphe même. Un naturaliste allemand, le Dr Rees, qui a découvert de nouvelles preuves de l'existence de levûres alcooliques diverses, écartant, avec raison peut-être, ces scrupules, a attribué des dénominations spécifiques aux diverses sortes de levûres, dans sa brochure de 1870 citée, page 71. Afin d'abréger le discours, il m'arrivera souvent de me servir des noms que le Dr Rees a proposés (1).

Dans la Note que j'ai insérée au *Bulletin de la Société chimique de Paris*, en 1862, j'ai figuré une levûre de petite dimension qui se développe spontanément dans le moût de raisin filtré ou non filtré et qui est très-différente de la levûre ordinaire du vin. Elle apparaît la première dans la fermentation du raisin et même elle s'y montre seule, si le moût de raisin est préalablement bien filtré, sans doute parce que ses germes plus petits

---

(1) Le principal résultat du travail du Dr Rees consiste dans la découverte d'une sporulation propre aux cellules de levûre, c'est-à-dire à la formation dans l'intérieur de celles-ci et dans certaines conditions spéciales, par exemple, par la culture sur des tranches cuites de pommes de terre, de carottes..., de deux, trois, quatre cellules plus petites qui se comportent comme des spores de germination des levûres lorsqu'on les transporte dans des liquides fermentescibles. La cellule mère peut être considérée comme un *ascus*, les cellules filles comme des *ascospores* et le genre *saccharomyces* se trouverait dès lors rangé dans le groupe des champignons appelés *ascomycètes*. Ces faits ont été confirmés par plusieurs observateurs, notamment par le Dr Engel, professeur à la Faculté de Médecine de Nancy.

Avant le Dr Rees, M. de Seynes (*Comptes rendus de l'Académie*, t. LXVII, 1868) a annoncé une formation endosporée dans le *mycoderma vini*, particulièrement dans les cellules allongées, avec rupture de la cellule mère et résorption du contenu et des parois de celle-ci après la sortie des endospores que nous venons d'appeler *acospores*.

Moi-même et auparavant j'avais signalé les corpuscules réfringents qui apparaissent dans les vibrions comme devant être des corpuscules reproducteurs, et j'avais vu également se résorber les parties environnant ces corpuscules. La Planche de la page 228 de mes *Études sur la maladie des vers à soie* représente les corpuscules et les résorptions dont je parle.

que ceux des autres levûres passent au filtre de préférence et en plus grand nombre. La *fig.* 27, tirée de ma Note de 1862,

Fig. 27.

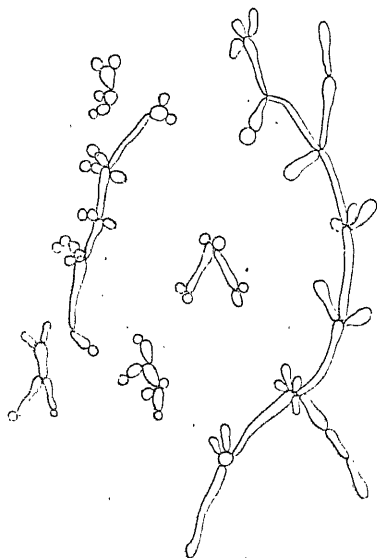
la représente mêlée à quelques cellules sphériques de levûre haute, afin de donner une idée plus exacte des dimensions relatives de ces deux levûres et de leurs dissemblances. Le Dr Rees lui a donné le nom de *saccharomyces apiculatus.*

Le même savant appelle *saccharomyces pastorianus* la levûre des fermentations secondaires des liquides sucrés, du vin resté doux après sa fermentation principale, levûre figurée dans la Note que j'ai publiée en 1864 sur les maladies des vins et dont j'ai donné alors la description suivante (1) :

« La *fig.* 6 (qui est ici la *fig.* 28) représente une variété de levûre alcoolique fort intéressante. Il arrive assez souvent, principalement dans le Jura, où les vendanges se font vers le 15 octobre, saison déjà froide et peu favorable à la fermentation, que le vin est encore doux au moment de l'*entonnaison :* cela se présente surtout dans les bonnes années où le sucre est abondant et la proportion d'alcool élevée, circonstance qui nuit à l'achèvement complet de la fermentation, lorsque celle-ci s'effectue à température basse. Le vin reste doux en tonneau, quelquefois pendant plusieurs années, en éprouvant une fermentation alcoolique insensible. J'ai toujours reconnu dans ces vins le ferment ci-dessous. C'est une sorte de tige avec rameaux d'articles de distance en distance, lesquels sont terminés par des cellules sphériques ou ovoïdes qui se détachent

(1) Voir t. LVIII des *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, p. 144.

facilement et forment comme les spores de la plante. On voit rarement le végétal aussi complet, parce que ses diverses parties

Fig. 28.

se disloquent, comme cela est indiqué dans la moitié gauche de la figure. »

D'où proviennent ces plantes cellulaires si remarquables? Où et comment les levûres du raisin, par exemple, prennent-elles naissance?

Au Chapitre III, § III, nous avons été mis sur la trace d'une solution à cette question : il a été établi que la fermentation du jus de raisin écrasé ne pourrait se produire s'il n'y avait pas contact et mélange des poussières de la surface des grains ou du bois de la grappe avec le moût. Il suffirait d'ailleurs qu'une cuve de vendange, d'une capacité quelconque, reçût les poussières d'une seule grappe, quelquefois même d'un seul grain, pour que toute la masse pût entrer en fermentation.

Quelle est donc la nature de ces poussières? Le 27 sep-

tembre 1872, je vais cueillir dans une vigne aux environs d'Arbois une grappe de raisin du plant appelé *le noirin*. La grappe choisie sans qu'un seul des grains fût avarié est apportée au laboratoire dans une feuille de papier qu'on venait de flamber dans la flamme de la lampe à alcool et les grains sont détachés avec des fins ciseaux également passés dans la flamme. A l'aide d'un pinceau de blaireau, ne cédant plus rien à l'eau où on l'agite, chaque grain, portant encore une portion de son pédoncule, est lavé dans un peu d'eau pure. Le lavage successif de douze grains dans 3^{cc} d'eau suffit pour troubler assez fortement cette eau, qui est alors examinée au microscope. Chaque champ montre plusieurs petits corps organisés, associés accidentellement à quelques rares aiguilles cristallines. Ce sont, en général, des cellules simples, translucides, incolores et d'autres plus grosses, colorées en jaune brun, libres ou réunies en amas irréguliers, et enfin des utricules pleines de spores prêtes à germer, quelques-unes en forme de gourdes. J'ai répété la même observation sur des grappes d'autres plants et aussi sur l'eau de lavage de la surface extérieure des groseilles, des prunes, des poires.... ; le résultat a été le même, c'est-à-dire que j'ai revu en très-grand nombre les mêmes cellules, les mêmes amas irréguliers de cellules brunes, qu'il ne faut pas confondre toutefois avec les amas de cellules mortes qui recouvrent çà et là l'épiderme de certains fruits.

Comme j'avais laissé, à dessein, chaque grain uni à une partie de son pédoncule, j'ai voulu savoir si les corpuscules dont je parle provenaient des grains ou du bois du pédoncule. A cet effet, j'ai lavé isolément la surface des grains et la surface du bois de la grappe. L'eau de lavage de ce dernier était visiblement plus chargée des petits corps organisés ; pourtant l'eau de lavage de la surface des grains n'en était pas exempte.

La *Pl. VIII* représente au grossissement de 500 diamètres ces corpuscules de la surface des fruits. Les groupes *b*, *b*, *b*,..., *c*, *c*,... étaient de couleur brune plus ou moins foncée ou jaune rougeâtre, les cellules *a*, *a*,... translucides. Parmi celles-ci il y a des spores de moisissures vulgaires et beaucoup de cellules is-

sues vraisemblablement par un commencement de germination, des groupes d'aspect dur, jaunâtre, à double enveloppe apparente *b*, *b*, *b*,..., *c*, *c*,..., sous l'influence de l'humidité du bois de la grappe ou des pluies les plus récentes au moment de l'observation.

Il est facile de suivre au microscope la germination de ces diverses sortes de cellules. On dépose une goutte d'eau de lavage du bois de la grappe d'un raisin, dans un petit volume de moût de raisin filtré à clair et qui a été porté préalablement à l'ébullition. La *Pl. IX* offre une série de développements observés sur des cellules simples ou groupées A, D, G et J. Voici comment les choses se passent. Les cellules jaune brun se ramollissent, se distendent dans le milieu nutritif et deviennent peu à peu presque translucides et incolores, en même temps qu'on voit apparaître sur leur pourtour des bourgeons très-jeunes qui grossissent vite et se détachent sous forme de jeunes cellules qui font place à d'autres, tandis que les précédentes vont bourgeonner à leur tour. La rapidité du bourgeonnement et de la prolifération de ces cellules est souvent extraordinaire. Le groupe A et la cellule D ont donné les groupes C et F en vingt-quatre heures, en passant par les groupes intermédiaires B, E. Ces cellules A et D n'ont pas donné de tubes allongés, du moins pendant le temps des observations, mais il y a d'autres groupes de cellules qui poussent tout de suite des tubes longs, cloisonnés à la manière des tubes de mycélium des moisissures ordinaires, en même temps que des cellules à profusion, lesquelles cellules se montrent également sur toute la longueur des tubes et souvent par bouquets, ainsi que l'indique la *fig.* G, dont tout le développement a eu lieu en moins de vingt-quatre heures (1). Hors du contact de l'air, toute vie est absente.

Les *fig.* H, I, J, K montrent encore d'autres aspects de ces

---

(1) Les Planches de ce paragraphe ont été déposées sur le bureau de l'Académie des Sciences, dans sa séance du 18 novembre 1872, et paraphées, à cette date, par le Secrétaire perpétuel, M. Dumas.

multiplications de tubes et de cellules : celles figurées en H sont sphériques; les I ont des bourgeons multiples ainsi que les K. Ces formes diverses sont toutes sorties en vingt-quatre heures de la cellule figurée au centre du groupe J. A propos de cette *fig.* J, je ferai remarquer que, après avoir assisté *de visu* à la chute de trois cellules ovales, le 30 septembre 1872 à 10^h du matin, aux points *a*, *b*, *c*, à 10^h45^m des bourgeons étaient reformés avec la grosseur indiquée sur la figure à ces mêmes places, et le soir, vers 5^h, ces bourgeons *a*, *b*, *c*, transformés en cellules, se détachaient à leur tour (1).

---

(1) Je me servais pour ces observations de petites cuves en verre, préparées avec un morceau de glace de Saint-Gobain, que je faisais creuser de part en part. Sur un des bords de cet anneau, je collais une des lamelles qui servent à couvrir les objets dans les observations microscopiques. J'avais ainsi une petite cuve au fond de laquelle je déposais du moût de raisin qui avait bouilli et une goutte d'eau de lavage des grains de raisin. Pour empêcher l'évaporation, on déposait sur la cuve une lame de verre. Enfin l'observation avait lieu par le dessous, à l'aide d'un microscope incliné, à réflexion totale (*a*).

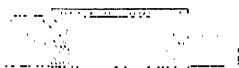
Fig. 29.

Je me suis servi également des petites cuves employées par MM. Van Tieghem et Lemonnier (*b*) dans leur travail sur les mucorinées (*fig.* 30).

Fig. 30.

Le dispositif qu'avait adopté en 1853 M. Duclaux (*c*) conviendrait également. On aurait encore plus de facilité en se servant de lentilles que j'avais commandées en Allemagne, il y a une dizaine d'années, au souffleur de verre si connu, Geissler. Ces lentilles, m'a-t-on dit, mises en vente par ce dernier, se sont beaucoup

(*a*) Dans mon Mémoire sur la fermentation acétique, publié en 1864, je me suis déjà servi de ce moyen pour suivre la multiplication des articles du *mycoderma aceti*. *Voir* PASTEUR, *Études sur le vinaigre*. Paris, 1868, p. 64.

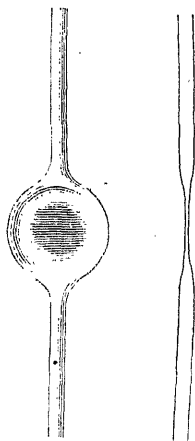
(*b*) VAN TIEGHEM et LEMONNIER, *Annales des Sciences naturelles*, 5e série, *Botanique*, t. XVII; 1873.

(*c*) DUCLAUX, *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*, t. LVI, p. 1225.

Mais quelle est donc la preuve que, parmi les développements de cellules et de tubes, sortant des petits corps bruns des poussières de la surface des fruits et que nous voyons ici bourgeonner et proliférer avec une si grande rapidité, il existe réellement la levûre ou les levûres de la vendange ? Une expérience fort simple va nous en convaincre. Lorsque le rajeunissement et le développement des cellules ont eu lieu en vingt-quatre ou quarante-huit heures dans le moût sucré, avec présence de beaucoup d'air, sur le fond d'un des petits vases qui servent aux observations, si l'on vient à remplir celui-ci complétement de ce même moût, de façon qu'il n'y ait plus d'air libre sous la lame qui ferme la cuve, bientôt après, une demi-heure, une heure au plus, souvent même en moins de temps, on voit s'élever du fond du petit vase des bulles de gaz et le dépôt des cellules augmente. C'est le moût qui fermente après la submer-

---

répandues en Allemagne auprès des micrographes. Elles consistent en un tube soufflé sur sa longueur en lentille plate dont les surfaces se rapprochent assez

Fig. 31

dans la partie centrale pour contenir une faible épaisseur de liquide et permettre l'observation microscopique. On peut remplir ce tube-lentille complétement de liquide, sans y laisser d'air, ou entourer d'air la goutte centrale (*fig.* 31).

sion des plantes cellulaires. En conséquence les cellules ou groupes de cellules brunes qui recouvrent les fruits ou le bois des grappes sont de véritables germes de cellules de levûre : plus exactement, c'est parmi ces groupes qu'existent les germes des cellules de levûre, car il serait contraire à la vérité de dire que les formes variées de la germination des poussières de la surface des grains de raisin correspondent toutes à des développements de véritables levûres. Ainsi les spores utriculaires *c*, *c*,... de la *Pl. VIII* sont des organes reproducteurs d'*alternaria tenuis* qui n'ont vraisemblablement que des ressemblances de formes avec la levûre ou les levûres alcooliques proprement dites. Mais, je le répète, et c'est là ce qu'il importe de bien noter quant à présent, les cellules de levûre naissent de tels ou tels des petits corps brunâtres organisés, que le microscope découvre en si grande abondance parmi les poussières de la surface des fruits.

L'impossibilité où nous nous sommes trouvés, au Chapitre III, § III, de faire fermenter le jus de raisin autrement que par l'influence des poussières extérieures, et la connaissance que nous venons d'acquérir que les poussières de la surface des grains de raisin et du bois de leurs grappes, au moment de la maturité du raisin, renferment des cellules germinatives donnant des levûres, nous invitent naturellement à une autre recherche, celle de l'époque de l'apparition de ces germes sur les différentes parties du cep de la vigne. Les deux observations suivantes tendent à établir que la levûre ne peut apparaître que vers l'époque de la maturité du raisin et qu'elle disparaît pendant l'hiver pour ne se montrer de nouveau qu'à la fin de l'été.

I. Au mois d'octobre 1873, je récoltai, dans une vigne du canton d'Arbois, des bois de grappes de raisins bien mûrs avec le soin de détacher à la vigne même, avec des ciseaux très-propres, tous les grains un à un ; puis j'enfermai pour les rapporter à Paris les bois de ces grappes ainsi privées de leur grains, dans du papier de soie. Je n'avais alors d'autre intention que de me procurer, pour mes études ultérieures, les poussières

fécondes en levûres qu'on trouve en octobre sur le bois de la vigne et plus particulièrement sur les grappes mêmes, comme je viens de le dire. Des fragments de ces grappes lavées dans un peu d'eau pure me donnèrent, en effet, très-facilement les levûres du raisin après mon retour à Paris, dans le cours de mes expériences du mois d'octobre et de novembre; mais, ayant répété les mêmes essais pendant l'hiver, je fus surpris de n'en plus retirer que des moisissures. Ces grappes, qui, mises en octobre dans du moût de raisin filtré, bouilli, donnaient très-facilement la fermentation de ce moût, ne la provoquaient plus du tout à la fin de l'hiver, quelque favorable que fût la température à laquelle le moût était porté. Les poussières des grappes étaient donc devenues stériles en tant que sources de levûres alcooliques.

II. Le 17 février 1875, j'achetai, chez le marchand de comestibles Chevet, deux grappes de raisin blanc parfaitement conservées, n'offrant pas la moindre avarie, aucun grain lésé. Une marmite de fer fut remplie de mercure, lequel y fut chauffé à 200°, puis recouvert d'une feuille de papier flambé. Après le refroidissement, on déposa à la surface du mercure plusieurs grains et grappillons des raisins Chevet, et, après les avoir enfermés dans une éprouvette qui avait été chauffée préalablement avec et dans le mercure, on les écrasa dans cette éprouvette au contact de l'air, à l'aide d'une forte tige de fer recourbée qui avait été passée dans la flamme de la lampe à alcool. Toutes ces précautions avaient pour but d'éloigner la cause d'erreur à laquelle auraient pu donner lieu les poussières associées au mercure ou flottant dans le laboratoire.

L'éprouvette fut ensuite portée dans une étuve à la température de 25°. Les jours suivants aucune fermentation ne se déclara. Alors, afin de m'assurer que la pulpe et le liquide étaient cependant très-propres à la fermentation, j'introduisis sous l'éprouvette une trace imperceptible de levûre. Celle-ci se développa facilement et provoqua promptement la fermentation (1).

(1) Dans ces sortes d'expériences, le volume de l'air dans l'éprouvette augmente

Il se peut donc qu'il n'existe plus de germes de levûre en hiver sur les grappes de raisins conservés, et l'expérience si connue de Gay-Lussac sur l'influence de l'air dans la fermentation du moût de raisins écrasés ne peut réussir en toute saison.

Les observations qui vont suivre le prouveront surabondamment, car elles ne sont, à tout prendre, qu'une méthode facile de faire l'expérience de Gay-Lussac sans avoir recours à l'emploi du mercure.

On peut déjà inférer de ce qui précède qu'il doit y avoir, dans le courant de l'année, entre la fin de l'hiver et l'automne, une époque de reprise dans la végétation de la plante d'où sort la levûre. Quelle est cette époque? En d'autres termes, jusqu'à quand se prolonge la stérilité de la plante après l'hiver en tant que plante susceptible de donner de la levûre? Pour m'en rendre compte, j'ai fait, pendant l'été et l'automne de 1875 et l'hiver de 1876, de nombreuses expériences. Obligé de les disposer dans un pays vignoble (ce fut dans le vignoble d'Arbois, en Franche-Comté), loin de mon laboratoire, j'ai dû adopter un dispositif expérimental particulier, facile à mettre en pratique et néanmoins assez rigoureux pour l'objet que j'avais en vue.

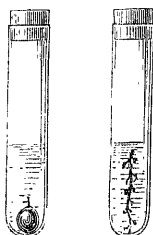
---

toujours un peu. Il pourrait même augmenter sensiblement alors même que l'expérience, faite avec des raisins frais, par exemple au mois d'août, ne donnerait lieu à aucune fermentation par formation de levûre. Après que l'oxygène de l'air a été absorbé et qu'il a été remplacé par du gaz carbonique, soit par un effet d'oxydation directe, soit par une action de moisissure, les grains, quoique écrasés, se comportent à la manière des fruits plongés dans le gaz carbonique (a), et l'effet est d'autant plus marqué que les grains ont été moins bien écrasés. C'est que l'écrasement n'est jamais assez parfait pour que toutes les cellules du parenchyme soient déchirées. Or il est facile de se convaincre que l'expérience du dégagement de gaz acide carbonique et de la formation de l'alcool par les grains de raisin et plus généralement par les fruits plongés dans le gaz acide carbonique réussit très-bien sur des fragments de fruits ou de grains et réussit dans la proportion même du moindre écrasement des parties.

(a) Voir au Chap. VI le paragraphe intitulé : *Fermentation dans les fruits sucrés plongés dans le gaz acide carbonique.*

Dans des tubes d'essai, fermés à une extrémité, je verse du moût de raisin conservé ; puis je le porte à l'ébullition, afin de tuer tous les germes qu'il pourrait contenir et après avoir passé la flamme de la lampe à alcool sur les parois supérieures du tube, je ferme celui-ci avec un bouchon, flambé jusqu'à commencement de carbonisation (*fig.* 32).

Muni d'une série de tubes ainsi préparés, je les transporte dans une vigne et là j'y fais tomber soit des grains de raisin, soit des grappes dont j'ai enlevé tous les grains en coupant leurs

Fig. 32.

pédoncules, soit des fragments de feuilles, soit du bois des rameaux. Les bouchons, flambés de nouveau, sont successivement replacés sur chaque tube. Tantôt je laissais tomber les grains entiers, tantôt je les écrasais au fond des tubes avec une tige de fer que je venais de flamber, ou bien encore, au moment même de leur introduction dans les tubes, je les ouvrais avec des ciseaux également flambés, afin qu'une portion de leur jus intérieur pût se mêler au moût contenu dans le tube.

Ces essais m'ont donné les résultats suivants :

Tant que les raisins ont été verts, fin de juillet et première quinzaine d'août, je n'ai pas obtenu de fermentation du moût de raisin. Du 20 au 25 août, quelques rares tubes ont donné lieu à la fermentation par la petite levûre apiculée. Le nombre des tubes qui entraient en fermentation a augmenté progressivement dans le courant de septembre. Toutefois, dans chaque série de tubes, on trouvait toujours absence complète de fermentation pour quelques-uns d'entre eux.

Je citerai quelques exemples : dans le commencement de septembre, j'avais introduit dans treize tubes des grains, les uns entiers, les autres écrasés, pris sur les grappes d'un pied du plant de *ploussard*, déjà assez mûr pour être très-agréable au goût. Aucun des tubes de cette série ne m'ayant donné trace de fermentation et seulement des moisissures (car les moisissures ne font jamais défaut dans ces expériences, qu'il y ait ou qu'il n'y ait pas de fermentation), j'ai recommencé sur le même pied une nouvelle série d'essais, le 28 septembre :

N° 1. Tube avec un seul grain non écrasé.
N° 2. Id.
N° 3. Id.
N° 4. Id.
N° 5. Tube avec deux grains non écrasés.
N° 6. Tube avec deux grains écrasés.
N° 7. Tube avec deux grains écrasés dans 2cc d'eau qui avait été portée préalablement à l'ébullition.
N° 8. Tube avec un fragment de grappe dont on a séparé les grains et qui occupe toute la hauteur du liquide.
N° 9. Tube avec un fragment de bois d'une branche.
N° 10. Tube avec un fragment de feuille.
N° 11. Id.
N° 12. Id.

Le 29 et le 30, pas d'apparence de fermentation dans aucun des tubes. Dans tous, des flocons de mycélium de moisissures. Le 1er octobre, la fermentation avec trouble général du liquide et suspension du développement des moisissures existe plus ou moins accusée et active dans les nos 2, 3, 4 et 5, avec grains non écrasés. Elle est absente dans les nos 1, 6, 7, avec grains non écrasés ou écrasés. Le n° 8, avec bois de grappe, fermente activement. Les nos 9, 10, 11, 12, avec fragments de bois de branche ou de feuilles, ne manifestent aucune fermentation. Les jours suivants, le n° 1 est entré en fermentation. A partir du 5 octobre, le nombre des tubes fermentants n'a pas changé.

Dans cette série, j'ai constaté dans les tubes en fermentation la présence de la petite levûre apiculée et une fois seulement le mélange de cette levûre et du *saccharomyces pastorianus*.

Inutile de dire que les grains employés étaient parfaitement mûrs. La vendange avait déjà commencé dans quelques cantons du Jura.

On voit par cet essai que, même à l'époque de la grande maturité du raisin, tous les grains sont loin de porter, chacun individuellement, des germes de levûre et que certains grains peuvent être écrasés, quelquefois plusieurs ensemble, sans pouvoir entrer en fermentation. En présence de ces nouveaux faits, les partisans de l'hypothèse de la transformation de la matière albuminoïde du jus du raisin en levûre comprendront sans doute le néant de leurs opinions, puisque leur hypothèse exige que tout grain ou tel ensemble quelconque de grains écrasés entre en fermentation au contact de l'air.

Le même jour, on a préparé une autre série de tubes avec le plant dit de *Trousseau :*

N° 1. Tube avec un seul grain entier.
N° 2. Id.
N° 3. Id.
N° 4. Id.
N° 5. Tube avec bois de branche.
N° 6. Id.
N° 7. Tube avec bois de grappe, grains détachés.

Les jours suivants, la fermentation a eu lieu dans le n° 4 et dans les n^os^ 5 et 7.

Ici donc, des grains entiers, trois sur quatre, n'ont pas fait fermenter le moût où ils étaient plongés ; un des deux tubes avec bois de branche a fait fermenter ce même moût et l'autre l'a laissé intact. Le tube avec bois de grappe a fermenté.

J'ai déjà fait observer que c'était le bois de la grappe qui était principalement chargé des germes de la levûre. Voici une série d'essais qui confirme la vérité de cette assertion.

Le 2 octobre 1875, je prépare, à la vigne, vingt-quatre tubes

contenant tous environ un tiers de leur capacité de moût de raisin pur, préalablement porté à l'ébullition :

N° 1. Tube avec un seul grain non écrasé.
N° 2. Id.
N° 3. Id.
N° 4. Id.
N° 5. Id.
N° 6. Id.
N° 7. Tube avec deux grains écrasés.
N° 8. Tube avec un grain écrasé.
N° 9. Tube avec bois de branche de vigne.
N° 10. Id.
N° 11. Id.
N° 12. Id.
N° 13. Tube avec fragment de bois de grappe, tous les grains détachés et enlevés.
N° 14. Id.
N° 15. Id.
N° 16. Id.
N° 17. Id.
N° 18. Id.
N° 19. Id.
N° 20. Id.
N° 21. Id.
N° 22. Id.
N° 23. Id.
N° 24. Id.

Les jours suivants, certains de ces tubes entrent en fermentation, les autres ne montrent que des myceliums de moisissures.

Le 7 octobre, ont fermenté : le n° 2 parmi les huit tubes à grains non écrasés ou écrasés ; pas un seul parmi les quatre à bois de branches ; parmi les tubes à bois de grappes, les n^os^ 15, 17, 20, 21, 22, 23, 24, sont tous en pleine fermentation.

En résumé, sont entrés en fermentation, c'est-à-dire avaient des germes de levûre :

Un seul tube, avec grain, sur huit ;

Aucun sur quatre parmi les tubes à bois de rameau de vigne;
Sept sur douze parmi les tubes à bois de grappes;
Ultérieurement le nombre des tubes qui ont fermenté n'a pas changé.

Le jour même où j'ai disposé cette série de tubes, j'en ai préparé vingt-quatre autres semblables, mais avec le bois de grappes *conservées depuis la récolte de l'année précédente.* Aucun des vingt-quatre tubes ne manifesta la moindre fermentation du jus de raisin qui entourait les grappes; nouvelle preuve de la stérilité des germes de levûre quand on conserve les grappes de raisins pendant un temps suffisant.

Jusqu'à quelle époque, après la vendange, les germes de la surface du bois des grappes gardent-ils la faculté de donner de la levûre? Les essais suivants ont été entrepris pour répondre à cette question.

On vient de voir que, le 2 octobre, des fragments de bois de grappes introduits à la vigne même, dans du moût de raisin, avaient donné sept fois sur douze la fermentation de ce moût. Afin de pouvoir éprouver le bois de ces mêmes grappes pendant l'hiver, on eut soin d'en enfermer des fragments dans du papier passé préalablement dans la flamme et l'on essaya des portions de ces fragments aux époques suivantes :

Le 21 décembre 1875, essai sur douze tubes. Tous commencent par montrer, les jours suivants, des flocons de mycélium ou des cellules pullulantes de mycodermes, de torulas et de *dematium.* Quatre seulement ont donné ensuite de la levûre et la fermentation alcoolique. On peut donc déjà pressentir que, trois mois environ après la récolte, un grand nombre des germes de levûre répandus sur le bois des grappes ont perdu leur vitalité par la dessiccation à l'air ambiant, puisque les deux tiers de ces bois de grappes sont maintenant stériles.

Le 21 janvier, nouvelle épreuve semblable sur douze tubes. La fermentation s'est déclarée, de 20° à 25°, pour deux d'entre eux seulement.

Le 2 mars, nouvelle épreuve, toujours sur douze tubes. La

fermentation s'est déclarée encore dans deux tubes. Au commencement d'avril, la stérilité fut absolue. On multiplia, à cette époque de l'année (avril et mai), les mêmes expériences sur des bois de grappes de raisins nouveaux et de raisins blancs conservés, de la dernière récolte, qu'on trouvait encore abondamment et frais chez les marchands de comestibles. On opéra également sur des bois prélevés dans une vigne de Meudon. La fermentation ne se déclara pas du tout dans un grand nombre des essais, et même il arriva qu'une grappe entière d'un raisin noir nouveau, très-mûr, acheté chez Chevet le 16 avril, et qui avait poussé en serre, ne fermenta pas du tout après qu'on l'eut écrasée.

Aucun des tubes qui ont fermenté jusqu'en mars avec les bois de grappes sèches, rapportées du Jura, n'a montré la levûre apiculée non plus que le *saccharomyces pastorianus*, mais seulement la levûre basse ordinaire du vin, le *saccharomyces ellipsoideus* (1). Il sera intéressant de rechercher si la levûre existe sur les divers arbustes autres que la vigne. Pendant l'hiver, je ne l'y ai pas trouvée. Une fois, avec le buis, j'ai eu la fermentation d'un des tubes à moût de raisin. C'était pendant l'hiver. Dans une foule d'autres essais il ne s'est fait que des moisissures et des développements de *dematium*, d'*alternaria* et de torulacées.

Les observations du Chapitre III, § VI, rapprochées de celles qui précèdent, prouvent que les levûres des fermentations peuvent, après dessiccation, conserver la faculté de germer plus longtemps que les cellules-germes répandues sur le bois mort de la vigne.

Comme on devait s'y attendre, l'examen microscopique des poussières répandues sur les grains et le bois des grappes montre de grandes différences dans la fécondité et le nombre de

---

(1) Le Dr Rees a nommé *Saccharomyces ellipsoideus* la levûre de vin représentée dans les *Pl. VIII* à *XI* de mes *Études sur le vin*, et que j'avais appelée la levûre ordinaire du vin, parce qu'elle est la plus abondante des levûres qu'on trouve à la fin de la fermentation qui donne le vin.

ces poussières aux diverses époques de la végétation du raisin. Tant que le raisin est vert, la vigne en pleine végétation, on ne rencontre guère, et encore en petit nombre, que des spores paraissant appartenir à des moisissures vulgaires, mais vers l'automne, lorsque la maturation du raisin s'achève, que les feuilles commencent à jaunir, des moisissures et des productions nombreuses, très-fécondes, s'amassent sur la vigne, sur les feuilles, sur les branches, sur les grappes, et c'est alors que l'eau de lavage des grains et du bois des grappes se trouve chargée de diverses sortes de corpuscules organisés; c'est alors aussi que les moisissures qui donnent les levûres arrivent à la phase de leur végétation, où, mêlées au jus du raisin, elles en provoquent la fermentation.

Il existe dans le Jura une fabrication de vin, dit *vin de paille*, qui paraît en contradiction avec ce que j'ai dit de la stérilité, à la fin de l'hiver, des germes de levûre déposés à la surface des grappes de raisins conservés. Le vin de paille est fait précisément avec des raisins conservés pendant longtemps après la récolte sur de la paille. Il semblerait que la fermentation ne devrait pas pouvoir se produire. Je ne doute pas, en effet, qu'elle n'ait lieu souvent par des germes de levûre autres que ceux qui provoquent la fermentation de la vendange récoltée à l'automne. Les raisins servant à faire le vin de paille fermentent vraisemblablement par la poussière de levûre répandue sur les ustensiles du vigneron depuis la vendange dernière. Nous avons vu au Chapitre III, § VI, que la levûre pouvait se dessécher, être réduite en poussière et conserver pendant plusieurs mois la faculté de germination. Il serait utile de soumettre mon idée à l'épreuve de l'expérience, ce qui serait facile, en ayant soin, toutefois, de faire l'écrasement des raisins conservés dans des ustensiles très-propres, qu'on aurait préalablement fait chauffer à la température de 100°, et écartant toute grappe offrant des grains avariés qui auraient pu fermenter ou engendrer de la levûre. La fermentation n'aurait pas lieu.

Une autre conséquence se dégage de tous les faits que nous avons exposés relativement à l'origine des levûres du vin : c'est

qu'il serait facile de cultiver un ou plusieurs ceps de vigne de façon que les raisins, *récoltés même à l'automne,* qui auraient poussé sur ces ceps, fussent incapables de fermenter spontanément après qu'on les aurait écrasés pour en faire écouler le jus. Il suffirait de soustraire les grappes aux poussières extérieures pendant la durée de la végétation des grappes et de la maturation des grains et de pratiquer l'écrasement dans des vases bien purgés de germes de levûres alcooliques. Tous les fruits, tous les végétaux se prêteraient à ce genre d'importantes recherches dont les résultats, suivant moi, ne sauraient être douteux.

Les observations qui suivent, relatives au polymorphisme du *saccharomyces pastorianus,* me paraissent avoir un grand intérêt dans l'histoire des levûres alcooliques, parce qu'elles laissent entrevoir d'étroites affinités entre cette levûre et des moisissures d'ordre plus élevé et précisément avec les *dematium* qui vivent habituellement sur les bois morts, de telle sorte qu'entre la vigne et les autres arbustes il y aurait seulement cette différence que parmi les *dematium* de la vigne il en existerait un ou plusieurs qui donneraient des cellules anaérobies, à un certain moment de l'année, et qu'au contraire les *dematium, alternaria...* des autres arbrisseaux seraient plus habituellement aérobies. Il n'y aurait rien qui pût surprendre dans ce résultat, quand on songe que parmi les mucors, par exemple, il en est également d'aérobies et d'anaérobies et qu'il existe également des torulas levûres ou anaérobies et des torulas exclusivement aérobies.

Lorsque le *saccharomyces pastorianus* sort de ses germes naturels, tels qu'ils sont répandus sur les fruits acides, on le voit en articles allongés, rameux, souvent pyriformes, plus ou moins volumineux ; mais, à mesure que l'oxygène en dissolution dans le liquide disparaît et que les bourgeonnements se répètent, les articles et cellules diminuent de longueur et de diamètre, de telle façon qu'on croirait avoir affaire finalement à une autre levûre plus petite.

La *Pl. X* représente cette levûre au début de la fermenta-

tion d'un jus de cerises. Bientôt on ne voit plus que des cellules plus petites, disjointes, rondes ou ovales et des articles relativement courts et grêles. C'est ce qu'indiquent déjà sur la figure les cellules *a*, *a*, *a*,... Comme ces dernières formes se multiplient extrêmement, il faut bientôt chercher dans plusieurs champs du microscope les formes longues et volumineuses de l'origine. Au lieu des formes de la *Pl. X*, on n'a plus que celles de la *Pl. XI*. En d'autres termes, l'aspect de ces levûres change de jour en jour après les premiers commencements de la fermentation. On dirait qu'avec les progrès de celle-ci la levûre se rapetisse, diminue de longueur et de diamètre et se réduit à de petites cellules ou à de courts articles, après avoir été formée de grosses cellules et d'articles longs et ramifiés. Ces différences sont dues principalement à un prompt changement dans le mode de bourgeonnement et de vie de la levûre par la présence ou l'absence de l'air et non à deux levûres mélangées, du moins toutes mes observations jusqu'à ce jour me portent à le croire. Dès que l'oxygène a été absorbé, les cellules de nouvelle formation sont ovales ou globuleuses, les articles plus courts et moins volumineux.

Ce n'est pas la seule cause des changements de formes et d'aspects dont nous venons de parler. Quoique l'air par sa présence, en quantité plus ou moins grande, ait une influence marquée sur les premiers développements de la levûre, il faut tenir compte d'une autre circonstance, difficile à caractériser dans le langage, mais qui s'accuse nettement au microscope et qui réside dans l'état même des cellules-germes. Le bourgeonnement d'une cellule ne se fait pas du tout, le plus souvent du moins, de la même manière lorsqu'elle est toute jeune ou qu'elle a vieilli hors d'un milieu nutritif; il y a entre ces deux états une différence qu'on pourrait rapprocher de celle qui existe, par exemple, entre une graine qui vient de se former et qui serait stérile et cette même graine qui a mûri par le repos, si l'on peut ainsi s'exprimer, c'est-à-dire qui a été conservée assez longtemps pour que sa germination devienne possible. En d'autres termes, et pour ce qui concerne notre sujet, il ne suffit

pas de faire rajeunir et pousser des cellules de levûre avec beaucoup d'air, dans un milieu nutritif sucré, pour obtenir l'aspect des premiers développements des cellules-germes de la surface des fruits sucrés et acides. Nous en avons une preuve dans la *Pl. VII,* dont la moitié droite représente le bourgeonnement des cellules de la moitié gauche dans un milieu très-approprié à leur vie *et en présence de beaucoup d'air.* Pour la longueur et la grosseur des articles et des cellules, la différence entre ces deux champs microscopiques est peu appréciable. Ce qui les distingue surtout, c'est la jeunesse relative et le bourgeonnement des individus dans la moitié de droite.

Mais voici un moyen simple de revenir des formes petites et disjointes de la levûre de dépôt, à la fin d'une fermentation, aux formes longues, tubulées, pyriformes, plus ou moins volumineuses, propres à la germination des cellules-germes, répandues parmi les poussières de la surface des fruits et dont la *Pl. X* nous offre un spécimen. Dans ce but, il faut faire vieillir autant que possible la levûre *saccharomyces pastorianus,* en l'abandonnant à elle-même très-longtemps, sans aliments, au contact de l'air pur, à l'état humide, et mieux encore en présence de l'eau sucrée. Après l'avoir cultivée dans du moût de bière, dans un ballon à deux tubulures, on décante avec précaution le liquide fermenté par la tubulure droite, en laissant le dépôt de levûre sur les parois du ballon. On replace le bouchon de verre qui fermait le tube de caoutchouc et l'on abandonne ainsi la levûre humide au contact de l'air pur. Un travail incessant se fait dans les cellules, qui vieillissent de plus en plus, sans perdre cependant leur vitalité. Je me sers du mot *vieillir,* ainsi que je l'ai déjà fait observer, parce que l'époque du rajeunissement d'une telle levûre dans du moût est d'autant plus retardée que la plante a plus attendu.

Il est rare que dans ces conditions il y ait mort de la levûre. Elle s'use et se flétrit, mais on la retrouve encore en vie, c'est-à-dire pouvant se reproduire, au bout de plusieurs mois, de plusieurs années même. A la longue pourtant, elle finit par mou-

rir et l'on en a la preuve lorsqu'on reconnaît que les cellules semées dans un milieu nutritif y restent inertes.

Pour épuiser la levûre sans la faire périr, l'eau sucrée est encore préférable. Après avoir décanté la bière, on la remplace par de l'eau sucrée pure, à 10 pour 100 de sucre candi. Voici comment on pratique le transvasement du liquide sans craindre les germes des poussières de l'air qui rendraient toutes ces expériences impossibles à suivre. On a préparé un ballon d'eau sucrée, pur de tous germes étrangers, qu'on réunit au précédent, ce qui se fait en enlevant le tube de caoutchouc du ballon à levûre et seulement le bouchon de verre qui ferme l'autre tube de caoutchouc du ballon à eau sucrée, puis on enfonce la tubulure droite du ballon à levûre dans le tube de caoutchouc du ballon à eau sucrée : on relève alors ce dernier, pour faire écouler son eau sucrée sur la levûre. Un aide passe en même temps la flamme de la lampe à alcool sur la partie courbe du col sinueux du ballon à eau sucrée, afin de détruire la vitalité des germes des poussières en suspension dans l'air qui rentre dans ce ballon au fur et à mesure qu'on le vide dans l'autre.

L'eau sucrée qu'on fait ainsi arriver sur de la levûre plus ou moins fraîche fermente. Quand la fermentation est achevée, on décante le liquide vineux et on le remplace par de nouvelle eau sucrée qui fermente encore, quoique déjà plus péniblement. On décante le nouveau liquide, on le remplace par de nouvelle eau sucrée, et ainsi de suite à trois ou quatre reprises, ce qui épuise de plus en plus la levûre, laquelle finit par ne plus pouvoir provoquer du tout la fermentation de la dernière eau sucrée.

Cet épuisement de la levûre dans l'eau sucrée peut se faire plus rapidement de la manière suivante. Il suffit de semer dans une grande quantité d'eau sucrée pure, 100^{cc} par exemple, une trace de levûre pure ; c'est-à-dire qu'au lieu de faire passer, comme nous venons de l'expliquer, le contenu d'un ballon d'eau sucrée sur tout le dépôt de levûre du ballon à moût de bière fermentée, on fait simplement une prise de levûre au fond de ce dernier, à l'aide d'un tube fin, et on la porte dans le ballon d'eau sucrée qui, à lui seul, suffit à épuiser la petite quantité de le-

vûre, après qu'elle a provoqué un commencement de fermentation, souvent insensible à l'œil, parce que le peu d'acide carbonique formé entre tout entier en dissolution, sans produire dans le liquide un dégagement de bulles visibles.

Chose remarquable, quoique la levûre, pendant son séjour prolongé en présence de l'eau sucrée, s'épuise à tel point, qu'elle ne fait plus fermenter du tout cette eau et qu'elle reste indéfiniment en sa présence à l'état de poussière inerte, elle ne meurt pas. Dans certaines de mes expériences, la levûre est demeurée vivante plus de deux ans sous l'eau sucrée (1). Il est à peine utile de faire observer que ces résultats sont en désaccord avec toutes les propriétés qu'on attribue ordinairement à la levûre (2).

Au lieu d'eau sucrée, on peut dans ces expériences se servir d'eau de levûre. Dans des ballons d'eau de levûre pure, on dépose un peu de levûre, avec toutes les précautions d'usage pour qu'elle ne se trouve pas associée à des germes étrangers. Il n'y a pas de fermentation, puisqu'il n'y a pas de sucre présent; la levûre éprouve cependant un commencement de bourgeonnement, qui est d'autant plus prononcé que la prise d'échantillon de levûre a apporté avec elle une plus grande quantité d'aliment hydrocarboné. Elle éprouve également un travail chimique intérieur qui la fait changer progressivement d'aspect. Le plasma des cellules se rassemble vers le centre, se colore en jaune brun,

---

(1) Toutes les levûres alcooliques mises dans ces conditions d'épuisement ne sont pas également résistantes. Celle qui paraît l'être le plus est le *saccharomyces pastorianus,* qui est la levûre que j'ai en vue présentement.

(2) Le mot *épuisement* dont je viens de me servir est-il bien choisi? Sans doute, on épuise les cellules de la levûre quand on les sème en quantité impondérable dans un grand volume d'eau sucrée; toutefois, il serait préférable de dire que c'est là un mode particulier de conservation de la vitalité des cellules, sans qu'elles puissent s'user assez pour périr, ou sans qu'elles puissent se multiplier par bourgeonnement. Il est à remarquer que la levûre, dans ce cas, se trouve placée dans un état de vie latente qui rappelle celle de nos cellules de la surface extérieure des fruits. Les cellules à la surface des fruits, des grappes, des écorces ne trouvent pas plus autour d'elles d'aliments suffisants pour leur propagation que nos cellules de levûre dans un grand excès d'eau sucrée. Pourtant on ne dirait pas des cellules-spores, à la surface des fruits ou de leurs bois, qu'elles sont dans des conditions d'épuisement. Le terme serait impropre.

devient granuleux et forme, à l'intérieur des cellules, des noyaux plus ou moins irréguliers, très-rarement d'aspect sphérique.

Je ferai observer, en passant, que ces conditions paraîtraient devoir être très-propres à la constatation du caractère de sporulation intérieure des cellules, découvert par le D[r] Rees. Néanmoins, je ne l'ai jamais constaté nettement dans cette circonstance.

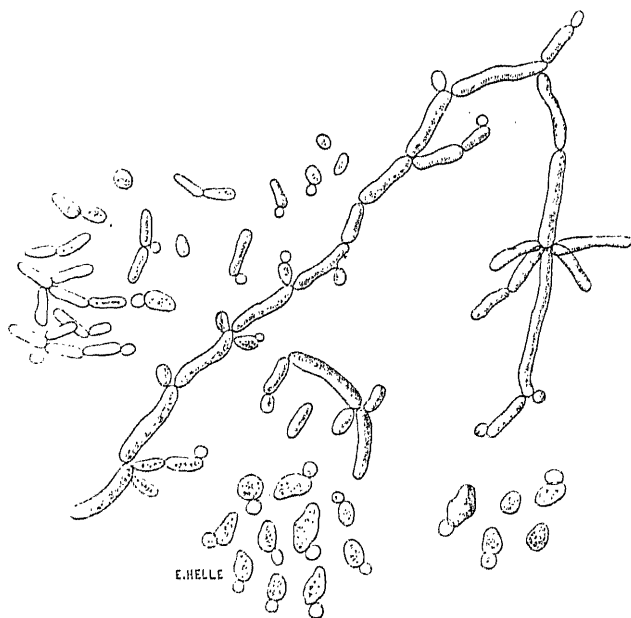
Ce qui doit appeler toute notre attention, c'est, je le répète, que cette levûre épuisée, toute ratatinée, de l'aspect le plus vieux, conserve sa faculté de germer pendant des années, et, d'autre part surtout, que cette faculté peut s'exercer ensuite, au sein des milieux nutritifs aérés, en offrant toutes les particularités que présentent dans les mêmes conditions certaines des cellules-germes de la surface de nos fruits sucrés domestiques; en d'autres termes, que la levûre, au lieu de se multiplier comme elle le fait toujours à la suite de plusieurs cultures, dans des moûts sucrés, sous forme de cellules qui se détachent promptement, dès qu'elles ont atteint à peu près la forme et le volume des cellules-mères, commence par des développements d'une grande beauté, semblables à ceux des *dematium pullulans,* et par cette levûre en gros et longs articles rameux, par ces grosses cellules souvent pyriformes de la *Pl. X.*

Les figures suivantes et les descriptions des observations auxquelles elles se rapportent vont nous fournir des preuves de ce que j'avance. On y voit nettement le *saccharomyces pastorianus,* épuisé par l'eau sucrée ou par l'eau de levûre, reprendre vie dans les moûts sucrés, sous les formes allongées, rameuses, pyriformes, propres aux levûres naissantes des fruits et passer ensuite aux formes plus petites des fermentations en marche ou qui s'achèvent.

Considérons la *fig.* 33, dont voici l'origine :

De la levûre spontanée qui, après des cultures répétées, avait l'aspect de la *Pl. XI,* aspect habituel du *saccharomyces pastorianus,* en cultures répétées et suivies, a été épuisée dans l'eau sucrée, puis rajeunie dans du moût de raisin à 10°-11°. A

cette température, la germination n'a été bien accusée qu'au bout de huit jours. A 20° elle n'a demandé que trois jours, toutes choses égales. Je n'ai dessiné qu'une des longues branches d'où se détachaient les cellules de levûre et les articles bourgeonnants, mais il y en avait un grand nombre d'autres. N'y a-t-il pas ici de grandes analogies avec certaines des formes de *dematium* de la *Pl. IX?* On y retrouve, pour ainsi dire, toutes les particularités des figures de cette dernière Planche.

Fig. 33.

La *fig.* 34 donne les premières formes de la germination dans du moût de bière d'un autre échantillon de *saccharomyces pastorianus*, après qu'on l'eut épuisé dans l'eau sucrée par quatre cultures successives. On y voit la grosse levûre, *Pl. IX,* du commencement de la fermentation des fruits acides, cerises, groseilles..... associée aux formes plus petites qui la suivent et qui en émanent, au fur et à mesure que les bourgeonnements

se répètent. Le champ était couvert de cette petite levûre. Il a fallu, au contraire, chercher dans plusieurs champs différents les grosses cellules et longs articles rameux qui sont figurés. C'est qu'on ne voit apparaître les gros et longs articles qu'à l'origine, lorsqu'il y a encore beaucoup d'air : par la répétition de leur bourgeonnement, ils ne fournissent plus que de petites cellules ou courts articles, dont le nombre toujours croissant masque la présence des premiers.

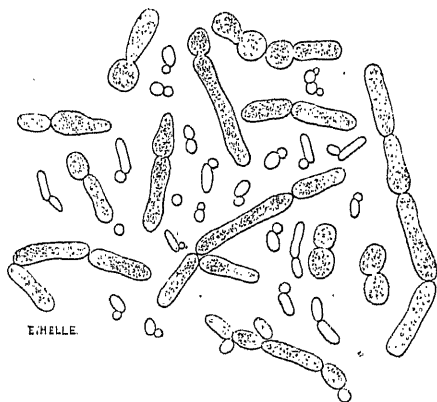
Fig. 34.

La *fig.* 35 représente encore le *saccharomyces pastorianus* épuisé par deux années de séjour dans de l'eau de levûre au contact de l'air pur. Chose curieuse, elle a perdu son caractère

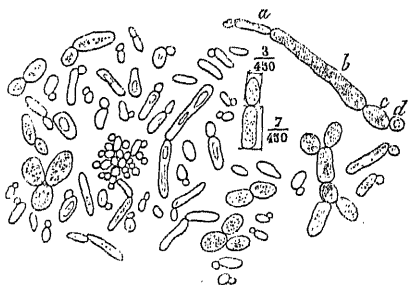
Fig. 35.

allongé. Elle paraît provenir d'une levûre ronde. Les cellules sont très-vieilles, la plupart à double contour apparent, l'inté-

rieur très-granuleux, de couleur jaunâtre. On dirait une vieille levûre morte. Il n'en était rien.

La *fig.* 36 représente la germination de cette levûre, mise à rajeunir dans un ballon de moût de bière, à la température ambiante, en mai 1875. Voici le détail de cette observation :

On a semé une trace de la levûre épuisée (*fig.* 35), le 16 mai, dans un ballon de moût de bière. Le dessin (*fig.* 36) est du 19 mai. Dès le 18, le rajeunissement était sensible. On voit combien était déjà développée la petite levûre, le troisième jour, après la mise en levain. J'aurais attendu quelques jours de plus avant de faire la prise, que j'aurais eu probablement de la difficulté à rencontrer des cellules ou tubes de la grosse levûre, tant leur proportion aurait été faible relativement à la petite.

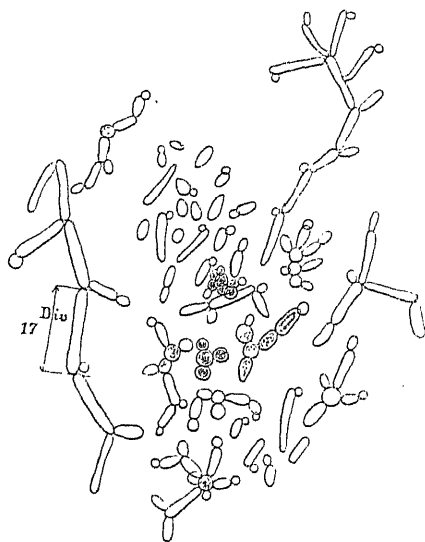
Fig. 36.

Il faut remarquer dans la figure la chaîne de grosses cellules et longs articles *a*, *b*, *c*, *d* : en *d*, une cellule de la semence ; elle est devenue translucide ; son contenu, finement granuleux a perdu toute teinte brune ; en *c*, une grosse cellule, née de la précédente, à contour ferme, pleine de fins granules jeunes, qui rappelle complétement les cellules de la grosse levûre des fruits lorsqu'elle commence à se montrer dans les jus sucrés, sortant des cellules-germes de la surface extérieure de ces fruits ; en *b*, un long tube de cette même levûre, et enfin en *a* un article et son bourgeon, mais à contour moins accusé, point ou peu granuleux, plus grêle, propre enfin à la petite levûre de la *Pl. XI*.

On saisit ici le passage de la grosse levûre à la petite, sur la même branche, après deux générations depuis la germination de la cellule de la semence *d*. Cette observation corrobore l'opinion que je défends, à savoir que dans les *fig*. 33, 34, 36, comme dans la *Pl. X*, nous n'avons pas un mélange de deux levûres, l'une plus grosse, allongée, tubuleuse, l'autre plus petite, mais une seule et même levûre dont les différences de formes et de volumes dépendent de conditions particulières. La levûre la plus petite est promptement seule apparente, et elle se maintient avec son aspect propre dans des cultures successives, ne pouvant revenir aux formes volumineuses, allongées, tubuleuses, qu'après un long épuisement. Vraisemblablement, la levûre du *mucor* donnerait lieu à des observations analogues. Il serait très-intéressant de le rechercher.

Voici une des plus curieuses figures de rajeunissement du *saccharomyces pastorianus*, après qu'il eut été épuisé dans un liquide minéral sucré : la levûre, sortant d'une cuve fermée où on l'avait fait servir à faire de la bière, a été semée dans le liquide minéral le 4 juillet 1873. Les jours suivants, apparence faible, mais sensible, de développement de la levûre, qui s'est accrue ensuite progressivement. On abandonne le ballon à lui-même, dans une étuve à 25° jusqu'au 3 décembre suivant, jour où l'on constate que le sucre a entièrement fermenté. Alors on sème une trace du dépôt, qui était devenu abondant, dans un ballon de moût de bière pur. Le 4 décembre, rien d'apparent. Le 5, au contraire, fermentation active, mousse volumineuse à la surface du liquide et, au fond, dépôt déjà considérable de levûre. De celle-ci on fait un examen au microscope qu'on dessine : c'est la *fig*. 37. Les cellules foncées, à double contour, sont des cellules de la semence, qui ne se sont pas rajeunies. On voit en divers points plusieurs de ces mêmes cellules, encore reconnaissables à leurs granulations intérieures, mais qui commencent à les perdre, donner lieu à des cellules et à des articles germinatifs, souvent nombreux. Par exemple, dans le groupe au bas de la figure, une d'entre elles est en voie de rajeunissement et de germination, et ne porte pas moins de six cel-

lules, articles ou groupes d'articles. Les divers champs du microscope montraient une foule de branches plus ou moins rameuses, de chaînes de cellules plus ou moins longues, dont on a figuré quelques-unes. Au fur et à mesure que les bourgeonnements se répètent sur ces branches, les cellules et articles se disjoignent plus promptement, se rapetissent, et on a l'aspect du *saccharomyces pastorianus* en culture ordinaire, à peu près comme le représente la *Pl. XI*. Au début, dans les premiers jets de la germination des vieilles cellules épuisées, l'apparence est plutôt celle d'un *dematium pullulans*, celle qu'offre la ger-

Fig. 37.

$1^{Div} = \frac{1}{450}$ de millimètre.

mination de beaucoup des corpuscules de la surface des grappes de raisin ou des fruits, ou de leurs bois, et dont la *Pl. IX* nous donne quelques spécimens.

Résumons quelques-uns des faits exposés dans ce paragraphe : il existe des levûres alcooliques diverses. Dans les fermentations

des jus sucrés naturels, qui éprouvent si facilement une fermentation alcoolique franche, particulièrement lorsqu'ils sont acides, les levûres sortent de certaines des cellules-germes, répandues sous forme de petits corps sphériques, de couleur jaune ou brune, isolés ou réunis sur la surface extérieure de l'épiderme de la plante et doués d'un bourgeonnement extraordinairement facile et rapide dans les liquides fermentescibles. La présence de l'oxygène de l'air est indispensable à la germination de ces cellules-germes, ce qui donne l'explication du fait observé par Gay-Lussac, que l'oxygène de l'air est nécessaire pour commencer la fermentation spontanée du moût de raisin (1). L'une de ces levûres mérite une mention toute particulière : c'est la levûre dite *saccharomyces pastorianus*. Comme toutes les levûres, elle n'est composée que de cellules ovales ou sphériques, ou de courts articles, lorsqu'on la recueille dans les dépôts d'un moût qu'elle a fait fermenter. Replacée dans un tel moût, elle y bourgeonne à la manière de toutes les levûres

---

(1) M. Béchamp (*Comptes rendus*, 18 novembre 1872) prétend *que l'air n'a aucun rôle direct sur la production du ferment ni sur la fermentation alcoolique*. Cette assertion erronée est déduite par cet habile chimiste d'expériences faites sur l'eau sucrée à laquelle il ajoutait des grappes de raisin, des pétales de coquelicots, des pétales de *robinia pseudo-acacia*. Comme on peut le voir dans mes *Études sur le vin*, p. 7, 1re édition (1866), ces expériences de M. Béchamp de 1872 ne font que reproduire celles qui ont été faites il y a longtemps avec des feuilles de vigne, des pétales de fleurs de sureau, des feuilles d'oseille, etc., par le marquis de Bullion, par Fabroni et par d'autres expérimentateurs. M. Béchamp a modifié ces expériences du siècle dernier en n'ajoutant les grappes, les feuilles, etc., à l'eau sucrée, qu'après avoir fait barboter du gaz acide carbonique dans le liquide. Comme la fermentation s'est encore manifestée malgré ce changement, M. Béchamp en a conclu à tort que *l'air n'a aucun rôle direct sur la production du ferment ni sur la fermentation alcoolique*. Le barbotement du gaz carbonique n'avait pu enlever tout l'air apporté par les objets ajoutés à l'eau sucrée et c'est l'air restant et adhérent à ces objets qui a permis la production du ferment.

J'ajouterai, puisque l'occasion m'en est offerte, que, dans cette même Note de novembre 1872, M. Béchamp commence par diverses assertions au sujet des formes des cellules de levûre alcoolique du raisin en fermentation. J'avais traité de cette question dix ans auparavant, avec figures à l'appui, dans ma Note du *Bulletin de la Société chimique de Paris* pour 1862.

ordinaires, poussant des bourgeons qui se détachent des articles ou cellules mères, lorsqu'ils ont atteint la taille de ces derniers, et dès lors le nouveau dépôt est semblable à celui qui l'a formé à titre de levain, et ainsi de suite; mais, dans certaines conditions d'épuisement faciles à reproduire et que nous avons rigoureusement indiquées dans les pages précédentes, les cellules changent absolument de capacité de bourgeonnement et de germination. Chaque cellule modifiée dans sa structure par les conditions dont je parle devient apte à germer tout autour de sa surface, avec une étonnante rapidité, et il en résulte une multitude de bourgeons, dont beaucoup sont l'origine de chaînes de branches rameuses, qui se couvrent çà et là, et principalement à leurs entre-nœuds, de cellules et d'articles qui se détachent et bourgeonnent à leur tour pour donner bientôt les formes de la levûre de dépôt. Le *saccharomyces pastorianus* nous offre, en conséquence, un trait d'union entre le genre levûre et certains genres de moisissures vulgaires, notamment le genre que de Bary nomme *dematium,* dont l'habitat ordinaire est la surface des feuilles ou des bois morts, et qui est surtout d'une abondance extraordinaire sur le bois de la vigne à la fin de l'été, au moment des vendanges. Tout porte à croire qu'à cette époque de l'année un ou plusieurs de ces *dematium* fournissent des cellules de levûre ou que même les *dematium* aérobies ordinaires émettent à un certain moment de leur végétation, outre des cellules et des torulas aérobies, d'autres cellules et torulas anaérobies, c'est-à-dire des levûres alcooliques.

Nous arrivons ainsi à la confirmation d'un soupçon qu'ont eu la plupart des auteurs qui ont beaucoup observé la levûre, c'est qu'elle devait être un organe détaché d'un végétal plus complexe. Ajoutons encore que, sur notre *saccharomyces,* les chaînes de tubes, de fuseaux, de cellules et d'articles plus ou moins pyriformes qui en naissent, rappellent extrêmement, si l'on y prend bien garde, les chaînes de tubes et de cellules-boules ou conidies du *mucor racemosus* submergé, de telle sorte qu'on pourrait croire que notre *dematium-levûre* est lui-même dans ses spores-germes un organe détaché d'un végétal encore

plus complexe, comme la levûre en boules appartient à la moisissure plus complexe, le *mucor racemosus*.

Voici le passage où de Bary emploie pour la première fois les mots *dematium pullulans* (Hofmeister, t. II, p. 182; 1866). Le naturaliste allemand rappelle d'abord les opinions de Bail, de Berkeley, de H. Hoffmann, qui soutiennent, le premier, que le *mucor mucedo* se transforme en levûre de bière, le second que la levûre est un état particulier du *penicillium*, le troisième que des champignons de nature très-variée peuvent l'engendrer, et spécialement le *penicillium glaucum* et le *mucor mucedo*; puis il ajoute : « Je me suis donné beaucoup de mal pour répéter les expériences (celles de Bail, de Berkeley, de H. Hoffmann); mais je ne pus jamais obtenir la confirmation des résultats énoncés, ni dans des cultures sur le porte-objet, ni dans celles que j'ai entreprises dans des tubes à réactifs, avec les matières les plus pures possibles (solutions artificielles et moût de vin; spores de *penicillium*, de *mucor mucedo*, de *botrytis cinerea*, etc.). » M. de Bary arrive donc sur ce point exactement aux résultats que j'avais communiqués à la Société philomathique et à la Société chimique de Paris, en 1861, résultats rappelés au Chapitre IV, note de la page 126.

Il continue en ces termes : « ... Dans ces sortes de recherches, il est difficile d'éliminer deux sources d'erreur. D'une part il est incontestable que partout sont répandues de véritables cellules de levûre, que par conséquent elles pénètrent facilement dans le liquide d'épreuve avec les spores que l'on a semées et peuvent occasionner des méprises (1). En second lieu,

(1) La diffusion des germes des levûres est moins grande que ne le suppose ici M. de Bary, ainsi qu'on a pu s'en convaincre par les observations du Chapitre III. *Voir* également les faits de mon Mémoire de 1862 *Sur les générations* dites *spontanées*, p. 49. C'est seulement dans un laboratoire livré à des recherches sur les fermentations ou dans d'autres lieux semblables, celliers, caves, brasseries, que l'air contient en suspension de véritables cellules de levûres prêtes à germer dans les milieux sucrés. Abstraction faite de ces circonstances particulières, la levûre n'est très-répandue qu'à la surface des fruits et sur les bois des arbres qui les portent, peut-être encore sur d'autres plantes. Les poussières en suspension dans un air quelconque donnent rarement la fermentation dans les moûts purs, même

il y a un grand nombre de champignons qui donnent naissance à des bourgeons analogues à la levûre, mais incapables de produire la fermentation et issus en partie de leurs spores, comme pour l'*exoascus* particulièrement, et en partie aussi du *mycelium*. Ce dernier cas est propre spécialement à une forme extraordinairement nombreuse de champignons qui se rattachent aux Dématiées et aux Sphériacées et que j'appellerai, pour lui donner un nom, *dematium pullulans*... »

Je terminerai par une remarque qui a dû se présenter certainement à l'esprit du lecteur : c'est qu'il eût été impossible de faire les expériences dont nous avons parlé dans ce paragraphe si nous n'avions eu affaire à des levûres pures, ou du moins à des mélanges assez connus pour que l'on pût assigner la part de chacun de leurs éléments dans les phénomènes observés. Comment tenir en culture, des années durant, dans de l'eau sucrée ou à l'air humide, des dépôts de levûre, si cette petite plante se fût trouvée mélangée de spores de moisissures, de ferments organisés divers, de germes de bactériums, de vibrions ou d'autres infusoires. Tous ces organismes étrangers auraient pris leur essor au gré des conditions de milieu plus ou moins favorables à leur développement, et, en très-peu de jours nos ballons auraient été peuplés d'êtres multiples qui, le plus souvent, auraient masqué entièrement les faits propres à ceux d'entre eux qu'il s'agissait de suivre et d'étudier isolément. Nous aurons donc à examiner, dans un paragraphe ultérieur la préparation des levûres à l'état de pureté. Dès à présent, nous pouvons constater que la levûre dans son état ordinaire, cet amas de cellules si altérables que sa conservation à l'état humide est impossible, qui manifeste en quelques jours pendant l'hiver, en vingt-quatre heures dans les chaleurs de l'été, tous les signes d'une putréfaction commençante,

---

quand on prend toutes les précautions voulues pour qu'aucune circonstance particulière ne vienne la masquer. La fermentation peut être masquée par les moisissures quand il y a beaucoup d'air en présence d'une petite quantité de liquide sucré.

en perdant ses propriétés, peut supporter au contraire, lorsqu'elle est pure, les plus hautes chaleurs de l'atmosphère pendant des années entières sans éprouver la moindre altération putride, sans qu'on voie apparaître aucun être microscopique étranger, sans que les cellules perdent leur faculté de reproduction. En présence de tels faits, n'est-elle pas chimérique l'hypothèse de la génération spontanée! N'est-elle pas également condamnée l'hypothèse de la transformation possible de la levûre en *penicillium glaucum,* en bactéries, en vibrions ou inversement, comme le veulent les théories de Turpin, H. Hoffmann, Berkeley, Trécul, Hallier, Béchamp...!

§ II. — De la levure dite « spontanée ».

L'expression de *levûre spontanée* peut se dire de toute levûre qui apparaît dans un liquide fermentescible sans qu'on l'y ait semée directement. Sous ce rapport, les levûres dont il a été parlé dans le paragraphe précédent, les levûres de tous les jus sucrés qui fermentent après qu'on les a abandonnés à eux-mêmes, les levûres du vin, par exemple, sont des levûres spontanées. Toutefois, elles ne méritent pas cette dénomination, parce que, après tout, les choses se passent comme si l'on pratiquait un véritable ensemencement, puisque nous avons constaté qu'il fallait de toute nécessité que le jus intérieur des fruits vînt laver la surface de ceux-ci, si l'on voulait qu'il y eût mise en levain et fermentation ultérieure. Dès lors quoiqu'il puisse m'arriver d'appliquer la dénomination de *levûre spontanée* à la levûre des fruits, j'entends réserver dans ce paragraphe l'expression de *levûre spontanée* à toute levûre qui prend naissance dans un liquide sucré où, par une ébullition préalable, on a détruit la vitalité des germes du ferment, et qui entre ensuite en fermentation par son exposition au libre contact de l'air. Dans ce cas les poussières en suspension dans l'air peuvent seules déposer les germes de la levûre qui prend naissance. Ce sont là les fermentations spontanées par excellence, et c'est de leur levûre que je vais parler.

Dans mes recherches sur la question de savoir si le *mycoderma vini* ou fleur du vin, de la bière, se transformait en véritable levûre alcoolique, recherches qui ont été d'autant plus prolongées et variées qu'après avoir cru pendant longtemps à cette transformation, je l'ai condamnée comme erronée sur la foi de nouvelles expériences plus précises, ainsi qu'on l'a vu au Chapitre IV, § II, dans ces recherches, dis-je, j'ai eu l'occasion d'observer un nombre considérable de ces fermentations spontanées pour divers liquides sucrés. J'ai expliqué alors la conduite des expériences. Après avoir déterminé le développement d'un voile de *mycoderma vini* ou *cerevisiæ* à la surface d'un liquide fermenté ou non, on submergeait ce voile dans du moût qu'on renfermait ensuite dans des ballons à long col, où apparaissait le plus souvent et en peu de jours la fermentation alcoolique. Cette fermentation ne résulte en aucune façon d'une transformation en levûre des cellules constituantes de la fleur. Le voile mycodermique ne fait que recevoir des germes de levûre apportés par les poussières flottant dans l'air du laboratoire, lesquels germes se développent en vraies levûres alcooliques au milieu des cellules du mycoderme submergé. Je provoquais donc par cette manière d'opérer des fermentations spontanées, dont les poussières atmosphériques pouvaient seules apporter les germes. Or, ces fermentations que j'étais tenu de suivre au microscope très-attentivement, dès leur première manifestation, à cause de la transformation que je cherchais et que je croyais possible des cellules du *mycoderma vini* en cellules de levûre, m'ont offert le plus ordinairement, dans les premiers jours de la fermentation, la grosse levûre allongée et rameuse de la *Pl. X*, suivie de la petite levûre, *Pl. XI* (1).

Je n'en citerai qu'un exemple: dans les premiers jours de

(1) Dans ces expériences, la levûre apiculée apparaît quelquefois, mais bien plus rarement que le *Saccharomyces pastorianus*. On y rencontre aussi la levûre ellipsoïdale. On aurait vraisemblablement plus de variétés dans les levûres, si ces essais pouvaient se faire en plein air, mais les insectes, les poussières de toute nature apportées par les vents les rendent difficiles et incertaines dans ces conditions. On

mars 1872, on a cultivé en cuvette plate, sur du moût de bière du *mycoderma vini*, originaire du vin. Le 6 mars, la fleur est submergée, et le tout introduit dans un ballon à long col complétement rempli. Le 9 mars, un commencement de fermentation se déclare. Le 12, on dessine la levûre du dépôt qui est représentée *Pl. XII*. C'est la grosse et longue levûre rameuse, plus ou moins pyriforme, qu'on voit apparaître au début des fermentations des moûts sucrés et acides de nos fruits domestiques. Le 16 mars, nouveau dessin du dépôt où la proportion des cellules en articles allongés et en tubes rappelant un peu à l'esprit des tubes de mycélium des moisissures typiques a fort diminué. Les cellules ovales, rondes, en courts articles, étaient au contraire en majorité. Ce jour, 16 mars, on a ajouté de nouveau moût de bière à celui qui fermentait, afin de prolonger la durée de la fermentation et augmenter la proportion de levûre. Le 19 mars, on a fait un nouveau dessin, qu'on a jugé également inutile de reproduire, et qui montrait une levûre de plus en plus régulière et uniforme.

La levûre spontanée est donc très-souvent cette grosse levûre qui, par la répétition de ses générations successives dans l'acte de la fermentation, se réduit peu à peu à la levûre que j'ai nommée, en me servant de l'expression du D^{r} Rees, le *saccharomyces pastorianus*, levûre polymorphe qu'il faut bien connaître, si l'on ne veut pas la confondre avec d'autres, et si répandue qu'il est bien rare de ne pas la trouver mêlée à toute levûre qui a été exposée au contact de l'air ordinaire, du moins, je le répète, dans un laboratoire livré à des recherches sur les fermentations. Les résultats ont été les mêmes dans une brasserie, avec association des levûres utilisées dans la brasserie.

Il existe sans doute plusieurs variétés de ce *saccharomyces*. On trouve quelquefois, parmi les levûres spontanées que des cultures répétées ont amenées à un état plus ou moins uni-

---

n'a pas cet inconvénient dans le laboratoire; malheureusement les travaux ordinaires qu'on y effectue donnent aux résultats des expériences moins de généralité que si elles étaient faites au libre accès de l'air de la campagne.

forme, les formes de la *Pl. XI*, mais en cellules et articles bien plus petits. Aussi le Dr Rees a distingué un *saccharomyces exiguus*.

La *fig*. 38 représente une autre levûre spontanée qui avait poussé dans un moût sucré bouilli, puis entré en fermentation après son exposition à l'air du laboratoire. Le dessin a été pris sur la levûre tout au commencement de la fermentation. Ce n'est encore probablement qu'une des formes de début du *saccharomyces pastorianus* ou d'une de ses variétés. On voit que la levûre alcoolique est associée à une autre petite levûre filiforme, probablement la levûre lactique. Les levûres spontanées

Fig. 38.

sont presque toujours impures, circonstance facile à comprendre si l'on se reporte aux résultats des Chapitres III et IV.

§ III. — Des levures haute et basse.

Les levûres dont il a été question dans les paragraphes précédents ne sont pas, à proprement parler, des produits industriels, c'est-à-dire qu'il n'existe pas présentement, dans la pratique, d'opérations où les levûres des fruits et les levûres spontanées soient maniées et utilisées. Ce sont ces levûres sans doute qui provoquent les fermentations d'où l'on tire le vin, le cidre, le rhum, les eaux-de-vie de genièvre, de gentiane, l'hydromel, etc., mais ces fermentations sont spontanées ; elles ont lieu

sans que l'homme s'en occupe, sans qu'il en dirige la production, sans qu'il se soucie le moins du monde de l'agent qui les met en œuvre.

Tout autres sont les pratiques de la fabrication de la bière. Le moût de bière n'est ,pour ainsi dire, jamais abandonné à la fermentation spontanée. On le met en levain par une addition de levûre formée dans une opération précédente ou qu'on a été chercher dans une brasserie en activité qui, elle-même, l'avait été prendre dans une autre brasserie, laquelle la tenait d'une troisième, et ainsi de suite jusqu'à la brasserie la plus ancienne qu'on puisse imaginer. Jamais un brasseur ne prépare lui-même son levain. J'ai déjà eu l'occasion de rappeler que l'échange des levûres de brasserie à brasserie est un usage respecté, qui a été en vigueur dans tous les pays, à toutes les époques, aussi loin qu'on puisse remonter dans l'histoire de la brasserie. Les levûres qui font à cette heure de la bière dans les brasseries Tourtel près de Nancy, Grüber à Strasbourg, Dreher à Vienne, etc., proviennent originairement de brasseries dont il serait difficile de fixer le lieu et l'époque de fabrication. Quant à la première brasserie qui a paru dans le monde, on ne peut douter qu'elle ait mis en œuvre une levûre spontanée, qui avait pris naissance dans une infusion d'orge abandonnée à elle-même ou dans une levûre spontanée naturelle, et rien ne serait plus facile que de réaliser ce fait de nouveau.

Dans l'industrie de la bière, on distingue deux sortes de fermentations, la fermentation haute et la fermentation basse, dont nous avons indiqué au Chapitre I^er^ quelques-uns des caractères distinctifs. La levûre spontanée de la première brasserie, ou celle que donnerait encore aujourd'hui un moût de bière abandonné à lui-même, serait-elle de la levûre haute, serait-elle de la levûre basse? Nous pouvons conclure des observations auxquelles ont donné lieu nos fermentations spontanées de moût de bière, que le moût de bière, abandonné à lui-même, fournirait des levûres plus ou moins semblables à celles du vin. Il ne m'est jamais arrivé, dans des fermentations spontanées de moût de bière, d'obtenir isolément soit la levûre haute, soit la levûre basse pro-

prement dites, et je ne les ai pas davantage obtenues avec leurs caractères industriels à l'aide des levûres des fruits. D'où proviennent donc les levûres haute et basse de l'industrie? Quel a été leur premier germe? Je ne saurais le dire ; mais je suis très-porté à croire que nous avons ici un exemple nouveau de ces modifications de plantes ou de races d'animaux, devenues héréditaires par une domestication prolongée. On ne connaît pas le blé à l'état sauvage ; on ne sait quelle a été sa première graine. On ne connaît pas non plus le ver à soie à l'état sauvage; on ignore la race qui en a fourni le premier œuf.

Ce que je viens de dire laisse supposer que la levûre haute diffère de la levûre basse et que toutes deux diffèrent des levûres spontanées et des levûres des fruits domestiques. Ces propositions méritent toute notre attention, car on admet généralement que ces levûres se confondent, que leurs différences morphologiques sont affaire de milieu et qu'il est facile de passer de l'une à l'autre. Les faits qui suivent sont en désaccord avec cette manière de voir.

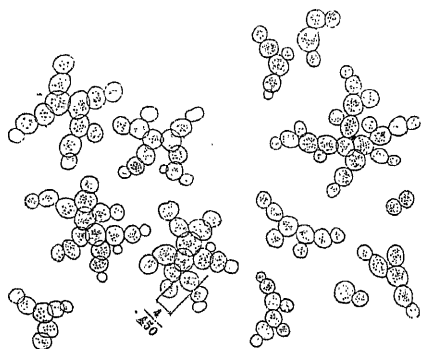
Levûre haute. — La *fig.* 39 représente de la levûre haute

Fig. 39.

d'un dépôt de cette levûre après fermentation, et la *fig.* 40 cette même levûre en voie de propagation dans du moût de bière aéré. Trois choses frappent tout d'abord quand on compare la levûre haute aux autres levûres alcooliques sous le même grossissement : ce sont un diamètre un peu plus grand des cellules, un aspect général plus globuleux, et, lorsqu'elles sont en voie de multiplication, un mode de bourgeonnement très-rameux, de telle sorte que ce ne sont que paquets et branches de cellules. La *fig.* 40 en donne une idée très-fidèle. Pour bien se rendre compte de l'état rameux propre à cette levûre, il faut

examiner celle-ci dans les premières heures de sa propagation, alors que, sous l'influence de l'oxygène dissous dans le liquide fermentescible, l'activité vitale est à son maximum. Plus tard, souvent dès le lendemain de l'ensemencement, les groupes se disjoignent, et, à la fin de la fermentation, les cellules sont séparées les unes des autres : 2 à 3 pour 100 à peine sont encore réunies et au nombre de deux cellules seulement. C'est ce que représente la *fig.* 39.

Pour donner une idée de la rapidité de la multiplication de cette levûre, je dirai que le dessin (*fig.* 40) a été pris dans les conditions suivantes : le 28 avril 1874, on met en levain avec une trace de levûre haute un ballon de moût de bière. Dès le lendemain matin, après quatorze heures, un dépôt notable de levûre

Fig. 40.

est formé et des îlots de mousse se montrent à la surface du liquide annonçant un commencement de fermentation. Le 1er mai, on décante la bière qu'on remplace par de l'eau sucrée à 10 pour 100 de sucre. Le 2 mai, nouvelle décantation de l'eau sucrée et remplacement par de nouvelle eau sucrée à 10 pour 100. Le 3 mai à midi, on fait une prise dans ce ballon en fermentation et on la porte dans un ballon de moût de bière ; cinq heures après la mise en levain on dessine la levûre. Le champ est couvert de paquets rameux ; les groupes ont été dessinés rigoureusement d'après nature. Cette activité est due à l'état de la levûre

et à la parfaite appropriation du milieu nutritif à la végétation de celle-ci. Dans l'eau sucrée, le bourgeonnement des cellules est bien moins actif; on ne rencontre pas de groupes de cellules rameuses. Le bourgeonnement existe pourtant chez un grand nombre, mais il est limité à un ou deux bourgeons au plus. La fermentation dans l'eau sucrée pure est principalement corrélative de la vie continuée des globules déjà formés.

Laissons notre levûre s'épuiser dans l'eau sucrée en grand excès, pendant très-longtemps, afin d'observer ultérieurement sa régénération et voir si nous retrouverons des faits analogues à ceux que nous a offerts le *saccharomyces pastorianus*, page 165 et suivantes.

A cet effet, le 6 mai 1874, on ensemence deux nouveaux ballons d'eau sucrée avec prises faites dans le ballon ci-dessus, qui avait été rechargé d'eau sucrée, le 2 mai. Le 13 mai, on décante le liquide encore très-sucré d'un de ces deux nouveaux ballons qui n'a, pour ainsi dire, pas fermenté du tout, tant il y avait peu de levûre, et on le remplace par du moût de bière. Chose remarquable, dès le 14 au matin, on constate un développement notable de levûre et une mousse de gaz carbonique à la surface du liquide. La levûre n'était donc pas morte, quoique épuisée comme ferment; mais le rajeunissement de cette levûre ne manifeste rien d'extraordinaire, pas la plus légère apparence d'une levûre allongée. On revoit les groupes rameux de la levûre haute, en cellules rondes, rien de plus.

Dans la crainte que la levûre n'ait pas été épuisée par un assez long séjour sous l'eau sucrée, j'ai laissé une année entière, abandonné à lui-même, l'autre ballon du 6 mai. Le 16 mai 1875, j'ai décanté le liquide sucré et l'ai remplacé par du moût de bière; mais cette fois la levûre ne s'est pas rajeunie, elle était morte. Heureusement, j'avais conservé également le ballon de levûre et d'eau sucrée du 2 mai 1874 dont j'ai parlé plus haut, et ici, comme on va le voir, la vitalité de la levûre n'était pas éteinte, sans doute par la formation de ce que je désignerai bientôt du nom de *levûre aérobie*. Le 16 mai 1875, je décante le liquide de ce dernier ballon et je le remplace par du moût de bière.

Le lendemain, la surface est couverte d'une mousse peu épaisse qui annonce que la fermentation s'est déclarée. Au microscope, on ne voit rien de particulier, rien qui annonce la formation d'une levûre spéciale, et afin de m'assurer que la levûre est restée levûre haute, j'en sème, le 19 mai, dans un nouveau ballon de moût; sept heures après la mise en levain, ce n'est plus déjà que groupes rameux, superbes, sans la moindre cellule allongée ; on ne saurait voir une plus belle levûre haute, d'un caractère plus franc.

La levûre haute ne montre donc, dans aucune circonstance, les formes et l'allure de la levûre *saccharomyces pastorianus*, non plus que celles des autres levûres connues. On est donc autorisé à la considérer comme une levûre *sui generis*. D'autres circonstances viennent à l'appui de cette opinion :

1° Pour une même quantité de moût sucré, le poids de levûre haute est plus considérable que pour les autres levûres. Des mesures précises ne sont même pas nécessaires pour s'en convaincre. Qu'on fasse fermenter des volumes égaux d'un même moût, l'un avec le *saccharomyces pastorianus* par exemple, l'autre avec la levûre haute, le volume de levûre haute sera visiblement supérieur, cinq à six fois plus dans certains cas.

2° La levûre haute est plus plastique. Une observation très-ordinaire le démontre. En agitant le dépôt de levûre dans son liquide fermenté, elle se détache en grumeaux difficiles à délayer. Le *saccharomyces pastorianus* se répand dans toute la masse liquide.

3° La levûre haute donne une bière spéciale, d'un goût *sui generis*, bien connu des consommateurs, goût peu apprécié aujourd'hui ; d'où résulte le remplacement graduel des brasseries anciennes, à fermentation haute, par d'autres brasseries qui utilisent toutes la levûre dite *basse* dont nous parlerons tout à l'heure.

4° Enfin, un caractère de la levûre haute, qu'elle partage avec d'autres levûres, mais non avec toutes, et qui, sous le rapport pratique, mérite une mention particulière, consiste en ce qu'elle monte à la surface du liquide pendant la fermentation. Dans les

tonneaux où la bière fermente par l'action de cette levûre, elle sort par la bonde et se déverse en grande quantité au dehors. La levûre dite de Pasteur, non plus que la levûre basse, n'a pas cette propriété : elle reste au fond des vases. Si la fermentation par levûre haute se passe en cuves non remplies, la levûre forme une couche épaisse, un chapeau à la surface de la bière. Ce caractère s'accuse même dans la fermentation des plus petites quantités de liquide. Dans nos ballons où le volume de moût en fermentation n'est pas supérieur à 100 ou 150^{cc}, il est facile de voir, après la fermentation tumultueuse, lorsque la mousse est tombée, les parois du vase couvertes, au delà du niveau du liquide, à 1 ou 2 centimètres de hauteur, de rendures de levûres en petits amas ou en couche mince que la mousse avait soulevée et qu'elle a déposée en se retirant.

Levûre basse. — Tandis que la levûre haute fonctionne dans les brasseries à fermentation haute, à des températures assez élevées, de 16° à 20°, la levûre basse n'est jamais utilisée à plus de 10° C. et l'on préfère même qu'elle n'agisse qu'à 6°, 7° ou 8°. A ces basses températures, la levûre haute n'aurait pas d'action sensible. La levûre basse, au contraire, se plaît dans les bas degrés de l'échelle thermométrique.

Dans mon Mémoire sur la fermentation alcoolique, inséré en 1860, dans les *Annales de Chimie et de Physique,* n'ayant pas fait d'observations spéciales, j'avais adopté l'opinion de l'identité des deux levûres.

Une étude plus attentive me porte à croire qu'elles diffèrent au contraire l'une de l'autre. On aurait beau maintenir la levûre haute aux plus basses températures qu'elle puisse supporter, répéter les cultures dans ces conditions ou élever la température des fermentations par levûre basse, qu'on ne réussirait pas à changer la première en la seconde ou la seconde en la première, à la condition toutefois qu'elles fussent chacune très-pures. Si elles étaient mélangées, le changement dans les conditions de développement ferait apparaître l'une ou l'autre et porterait à croire à une transformation.

L'opinion générale des brasseurs est différente. Ils admettent

généralement que la levûre basse cultivée à haute température devient levûre haute et inversement, que la levûre haute devient basse par des cultures répétées à basse température. Beaucoup m'ont dit l'avoir constaté. Je crois que le succès de cette transformation n'a été qu'apparent et qu'il faut l'attribuer, comme je viens de le dire, à ce qu'on a opéré sur un mélange de deux levûres.

Mitscherlich et divers auteurs après lui ont prétendu que la levûre haute se multipliait par bourgeonnement et la levûre basse, au contraire, en épanchant au dehors de ses cellules déchirées des séminules qui reproduiraient en grossissant les cellules ordinaires. Il m'a été impossible de rien constater de pareil.

La *fig.* 41 représente un champ de levûre basse, prise dans

Fig. 41.

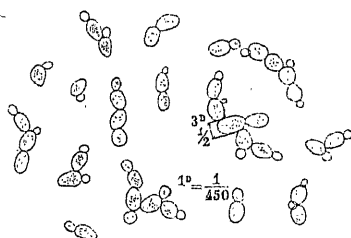
le dépôt d'une cuve après la fermentation de la bière. Les granulations mêlées aux cellules sont tout à fait amorphes, quoiqu'une foule d'entre elles soient parfaitement sphériques. C'est un produit étranger à la levûre (*voir* n° 7, *Pl.* I). La levûre haute et toutes les levûres de bière sont associées à cette nature de dépôt. Nul doute que des observations confuses au sujet de ces petits corps n'aient été la cause de l'erreur que je viens de rappeler au sujet d'un mode particulier de reproduction de la levûre basse, et au sujet duquel je me suis déjà expliqué, page 144.

On voit par la *fig.* 41, comparée à la *fig.* 40, page 186, que l'aspect général de la levûre basse se distingue tout d'abord, quoique d'une manière peu accusée, de la levûre haute par un peu moins de grosseur et moins de rondeur, de sphéricité dans

les cellules. Cependant ces différences échapperaient à un œil peu exercé.

De même que pour la levûre haute, les dépôts de levûre basse après fermentation, n'offrent guère que des cellules disjointes isolées; on y trouve également tout au plus 2 ou 3 pour 100 de couples de cellules. Ces deux levûres offrent, comme on va le voir, des différences plus accusées dans les caractères de leur bourgeonnement et de leur multiplication.

Le 28 mai 1875, je dépose une trace de levûre basse pure, disjointe, qui vient de terminer une fermentation, dans un ballon de moût de bière. Le 29 mai, seize heures après la mise en levain, la température de la nuit ayant été de 15°, je dessine la levûre alors que le développement n'est pas encore apparent à l'œil nu; il n'a commencé à l'être, c'est-à-dire à former un dépôt visible au fond du liquide et à provoquer des îlots de mousse à la surface du liquide que le 30 mai. Il suffit de jeter un coup d'œil attentif sur la *fig.* 42 pour observer une diffé-

Fig. 42.

rence notable avec celle qui représente à la page 186 la multiplication des cellules de la levûre haute; outre que les cellules de levûre basse sont un peu moins grosses, un peu plus ovales, comme nous l'avons déjà fait remarquer, le bourgeonnement est sensiblement moins rameux; d'où résulte un moindre nombre de ces paquets de globules qui frappent l'observateur dans le développement, pris à temps, de la levûre haute.

Qu'on fasse vieillir la levûre basse en l'abandonnant plus ou moins longtemps sous la bière qu'elle a formée, ou qu'on l'épuise

dans l'eau sucrée en la laissant des mois entiers sous un volume d'eau sucrée bien supérieur à celui qu'elle peut faire fermenter, qu'ensuite on la fasse rajeunir et pulluler dans un moût sucré, nutritif et aéré, cette levûre reprendra l'aspect qu'on vient de figurer et de décrire. Tout au plus verra-t-on se manifester de petites différences dans le volume des cellules, dans des cultures variées.

Un caractère industriel fort remarquable de cette levûre consiste en ce qu'elle ne monte pas à la surface, et cela, quelle que soit la température à laquelle on la fasse agir, que ce soit à 6° ou 8°, à 15° ou 20° C. ; en d'autres termes, elle n'est pas soulevée par le gaz carbonique au moment de la fermentation tumultueuse. Après que la fermentation est achevée, la surface du liquide et les parois latérales des vases au delà du niveau sont nettes, non recouvertes de levûre, qui reste tout entière au fond du liquide fermenté. Elle forme également un poids toujours moindre que celui de la levûre haute, pour une même quantité de liquide, mais supérieur à ce que serait le poids du *saccharomyces pastorianus*. Enfin, le goût et la finesse de la bière sont bien plus appréciés des consommateurs que ceux des bières des autres levûres.

§ IV. — De l'existence et de la production d'autres sortes de levures.

Nous connaissons présentement les levûres alcooliques suivantes, sans compter même celle de *mucor* :

La levûre dite de *Pasteur*, qui fait partie de la levûre du raisin et de celle des fruits domestiques, de beaucoup de levûres spontanées en général ;

La levûre de bière à fermentation haute ;

La levûre de bière à fermentation basse.

Il faut y joindre la levûre ordinaire du vin et celle dite *apiculée*, malgré son peu d'importance pratique, puisqu'elle est en général promptement étouffée par d'autres plus vivaces dans les fermentations spontanées des fruits. Ce ne sont

pas les seules levûres alcooliques; l'étude des cellules germinatives répandues à la surface des fruits, des graines, des tiges de tous les végétaux, dans les divers pays, en feraient découvrir probablement de nouvelles. Je vais jusqu'à croire qu'une même levûre pourrait en produire une multitude d'autres. Les essais que j'ai tentés dans ce sens ne sont pas assez avancés : qu'on me permette d'en donner seulement le principe. Une levûre est une réunion de cellules qui ne sauraient être individuellement identiques. Chacune de ces cellules a des propriétés d'espèce ou de race qu'elle partage avec les cellules voisines, et, en outre, des caractères propres qui la distinguent, et qu'elle est susceptible de transmettre dans des générations successives. Si donc on parvenait à isoler, dans une levûre déterminée, les diverses cellules qui la composent et qu'on pût cultiver à part chacune d'entre elles, on obtiendrait un nombre égal de levûres qui, vraisemblablement, seraient distinctes les unes des autres, parce qu'elles participeraient chacune des propriétés individuelles de leur cellule d'origine. Afin de tenter la réalisation pratique de ce résultat, desséchons une levûre et réduisons-la en fine poussière. Au Chapitre III, § VI, nous avons reconnu que ce genre d'épreuves était possible et qu'une poussière de levûre et de plâtre conserve très-longtemps la faculté de reproduction de la levûre. Laissons tomber alors d'une assez grande hauteur un nuage de cette poussière, et, à une certaine distance au-dessous, ouvrons plusieurs ballons vides d'air, mais contenant un liquide fermentescible qui aura subi préalablement la température de l'ébullition, puis refermons aussitôt chaque ballon. Il pourra arriver que des cellules de la levûre répandues dans le nuage, très-élargi par la chute, pénètrent isolément dans quelques-uns des ballons et y deviennent la source d'un poids de levûre appréciable, dont toutes les cellules auront pour origine la même cellule mère.

J'ai constaté que les ballons s'ensemencent facilement dans ces conditions, et mes premières observations, quoique incomplètes, ont été favorables à l'idée qu'on pourrait obtenir ainsi de nombreuses variétés de levûres.

Les levûres spontanées proprement dites, dont j'ai parlé

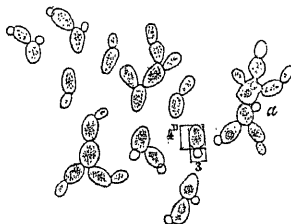
précédemment, sont après tout le résultat d'ensemencements de cette nature. Nées dans des liquides qui ont bouilli et qu'on a abandonnés au contact de l'air, dans un lieu où il doit y avoir des cellules ou des germes de levûre, ces levûres doivent provenir assez souvent de germes uniques ou très-peu nombreux et ce serait probablement un moyen de créer également des races de levûres distinctes.

Sans m'arrêter davantage aux conséquences pratiques que pourraient avoir les idées que je viens d'exposer, je vais faire connaître deux nouvelles levûres alcooliques très-différentes de celles dont j'ai parlé.

Nouvelle levûre haute. — Voici dans quelle circonstance fortuite j'ai rencontré cette levûre. Le 12 février 1873, on avait fait, dans mon laboratoire, un brassin de moût de bière du volume de $2^{hl},5$; 10^{lit} du moût avaient été mis à refroidir sur un bac de fer-blanc. Le lendemain, on mit à part une bouteille pleine du moût de cette portion qui était restée exposée une nuit au libre contact de l'air du sous-sol du laboratoire, où était établie une petite brasserie expérimentale. Les jours suivants, le moût de la bouteille se montra altéré à sa surface par diverses productions, et au fond de la bouteille par un dépôt de levûre. Le 23 mai, comme on apercevait des bulles de gaz et une fermentation continue dans la bouteille toujours bouchée, on craignit qu'elle ne se brisât par l'excès de pression intérieure, et l'on enleva le bouchon. Un dégagement gazeux considérable se manifesta aussitôt, accompagné d'une mousse volumineuse, qui vida la bouteille à moitié. L'examen microscopique du dépôt du liquide trouble fit découvrir au milieu de divers organismes une levûre très-homogène que je n'avais pas encore rencontrée parmi les levûres spontanées que j'avais eu l'occasion d'étudier. Dans la pensée que cette levûre était nouvelle et donnerait probablement une bière également inconnue, je me suis appliqué à la purifier et à la cultiver dans des ballons de moût pur, pendant les mois de mai, juin, juillet; les dernières cultures du 4 août 1873 furent conservées, afin qu'on pût s'assurer de la pureté de la bière et par suite de celle de la levûre, pureté qui fut reconnue,

en effet, le 15 novembre suivant. C'est alors qu'on fit de la bière avec cette levûre abandonnée depuis plusieurs mois au contact de l'air pur. La bière ne ressemblait à aucune des bières connues. En conséquence, la levûre était bien elle-même une levûre spéciale, différente des autres levûres, notamment de celles qui nous ont occupé dans ce Chapitre.

La *fig*. 43 représente le rajeunissement de cette levûre :

Fig. 43.

Par sa forme ovale, par son mode de bourgeonnement, par ses dimensions, cette levûre offre une grande analogie avec la levûre basse, ce qui résulte, par exemple, de la comparaison de la figure précédente avec celle de la page 191; mais ce qui la distingue essentiellement de la levûre basse, c'est qu'elle est montante à la manière de la levûre haute. Soulevée par les gaz de la fermentation, elle forme à la surface du liquide fermentant une couche de levûre qui persiste après que la mousse est tombée. Une portion de ce *chapeau* de levûre recouvre également les parois latérales de la cuve au delà du niveau du liquide.

En résumé, par ses formes plus régulières, par l'uniformité dans les dimensions de ses cellules, cette levûre se sépare nettement du *saccharomyces pastorianus ;* par son aspect ovale non sphérique, par l'état rameux de ses chaînes de cellules bien moins accusé que pour la levûre haute, elle ne peut être confondue davantage avec cette dernière ; par son caractère montant, elle diffère absolument de la levûre basse ; enfin, par le goût de la bière qu'elle fournit, elle se distingue de toutes les sortes de levûres.

Cette levûre, que le hasard m'a fait rencontrer, pourrait être introduite dans l'industrie. N'y existe-t-elle pas déjà présentement? Je serais porté à le croire. Après la guerre de 1870, des commerçants viennois ont établi à Maisons-Alfort, près de Paris, une fabrique de levûre pour la boulangerie. On saccharifie par le malt un mélange des farines de seigle, de maïs et d'orge qu'on fait ensuite fermenter. J'eus un jour l'occasion d'étudier la levûre que livre cette usine, et, quoique je ne l'aie pas soumise à des observations assez multipliées et suivies pour me prononcer en toute certitude, j'ai cette impression que la levûre de Maisons-Alfort est une levûre haute, différente de la levûre haute proprement dite des brasseries à fermentation haute et offrant de grandes ressemblances avec la levûre haute dont je viens de parler. Il serait intéressant de confirmer l'opinion de leur identité possible par une étude nouvelle, et le mieux, à cet effet, serait de comparer les qualités des bières que ces deux levûres pourraient fournir.

Levûre caséeuse. — J'appelle *levûre caséeuse* (on en verra tout à l'heure la raison) une levûre que le hasard encore m'a fait rencontrer. J'essayais divers modes de purification pour les levûres et j'avais été conduit à composer un liquide formé de :

Moût de bière ordinaire................	150^{cc}
Eau saturée de bitartrate de potasse......	50
Alcool à 90°.........................	25

Ce liquide était porté à l'ébullition dans mes ballons à deux tubulures, refroidi, puis ensemencé avec telle ou telle levûre. Après l'ensemencement, le ballon était porté et maintenu à 50° dans un bain d'eau pendant une heure.

Si l'on opère dans ces conditions avec de la levûre haute de l'industrie, par exemple avec de la levûre dite *de Hollande*, bien connue dans les distilleries, la fermentation se déclare au bout de quelques jours, malgré l'élévation de température subie par ce liquide houblonné, un peu acide et alcoolique. Le temps nécessaire pour la reprise de la fermentation dépend, et du degré de la température qu'on a fait subir à la levûre, et de la durée de

l'exposition à la chaleur. Ce ne sont pas là toutefois les circonstances sur lesquelles je veux insister pour le moment. Il est plus digne d'attention que la nouvelle levûre n'ait plus du tout les caractères de la levûre haute, dont la levûre de Hollande paraît formée exclusivement, si l'on ne tient pas compte des impuretés inhérentes à un produit commercial de cette nature. D'autres échantillons de levûre de Hollande conduisirent au même résultat.

Les *fig.* 44 et 45 représentent la nouvelle levûre au grossissement

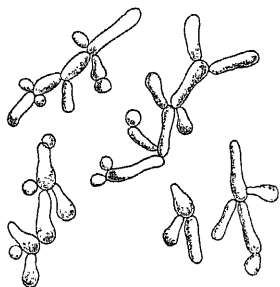
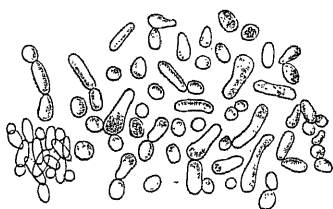
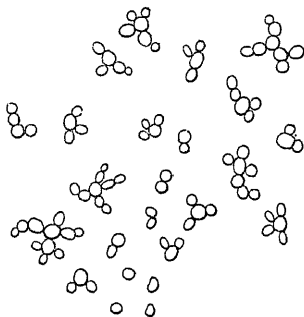



Fig. 44. Fig. 45.

ment ordinaire des autres levûres, c'est-à-dire $\frac{400}{1}$: on voit combien sa forme est différente de celle de la levûre haute, combien peu elle en a l'aspect sphérique et le mode de bourgeonnement. Dans le dessin de droite, on voit la levûre prise en masse, et à gauche, les groupes rameux dont les cellules et articles forment, après leur disjonction, la levûre de dépôt. Elle se présente donc composée de branches d'articles plus ou moins longs, qui, aux articulations, poussent de nouveaux articles pareils ou des cellules rondes, ovales, en poires, cylindriques, etc. Nous retrouvons encore ici l'aspect de *dematium*. Ces globules et articles ont une fermeté de contours, une translucidité et une réfringence plus marquées que dans la plupart des levûres ; mais le caractère physique le plus curieux de cette levûre est sa plasticité et son élasticité, si l'on peut ainsi s'exprimer. Elle se délaye difficilement. Quand on l'agite dans l'eau, elle retombe tout de suite au fond, comme ferait un précipité caillebotté, et l'eau surna-

geante est à peine troublée par quelques globules en suspension. Sous la petite lamelle qui la recouvre sur le porte-objet du microscope, elle revient sur elle-même quand on la comprime. Par tous ces motifs, je la désigne sous le nom de *levûre caséeuse*. Enfin cette levûre fournit une bière qui est encore spéciale et qu'on ne peut confondre avec les autres sortes de bières connues aujourd'hui. Je dois ajouter qu'elle se perpétue avec ses caractères dans des cultures nouvelles et que je ne l'ai jamais vue reproduire de la levûre haute ordinaire.

Lorsque la levûre caséeuse est semée dans un milieu minéral sucré, son aspect, sa forme, son mode de bourgeonnement diffèrent complétement de ces mêmes caractères quand elle vit dans un milieu naturel, tel que le moût de bière ou tout autre approprié à la nutrition et à la vie des levûres.

La *fig.* 46 représente cette levûre en voie de développement,

Fig. 46.

quarante-huit heures après son ensemencement dans un milieu minéral (c'était du *liquide Raulin*, dont on avait remplacé le nitrate d'ammoniaque par du bitartrate d'ammoniaque). On voit combien son aspect diffère de celui des figures précédentes ; mais elle reprend les formes de ces dernières si l'on vient à la cultiver de nouveau dans des moûts naturels sucrés.

La levûre haute d'une brasserie à fermentation haute des Ardennes, chauffée dans les conditions ci-dessus énoncées, m'a donné également de la levûre caséeuse, sans trace de levûre

haute, absolument comme cela était arrivé pour la levûre de Hollande. Toutes les levûres hautes de l'industrie paraissent donc se comporter de la même manière.

Quelle conclusion faut-il déduire de ces faits? En apparence que la levûre haute se modifie par la chaleur dans un milieu acide et alcoolique et qu'elle fournit de la levûre caséeuse. Cependant on pourrait encore supposer que les levûres hautes de l'industrie sur lesquelles nous avons opéré contenaient, à l'état de mélange, de la levûre caséeuse, et que, par l'application d'une température de 50° dans notre milieu alcoolique, la levûre haute périt tout entière et que la levûre caséeuse seule résiste. Il est remarquable que cette dernière hypothèse, qu'on pourrait croire invraisemblable, parce que le microscope n'accuse pas de mélange de levûres, paraisse cependant être l'expression de la vérité. En effet, si l'on soumet à 50° pendant une heure, dans le milieu dont il s'agit, non plus une levûre haute commerciale, mais de la levûre haute *absolument pure*, celle-ci périt complétement, et le moût de bière après le refroidissement peut rester des années dans une étuve, sans donner, ni fermentation, ni production quelconque de levûre haute ou de levûre caséeuse. Au contraire, si l'on ensemence le même liquide alcoolique avec la levûre caséeuse et qu'on porte le vase à 50° pendant une heure, la levûre caséeuse se régénère après le refroidissement (1).

Il ne semble donc pas possible d'admettre que la levûre caséeuse résulte d'une modification de la levûre haute, et l'on est conduit à cette conséquence qu'elle doit provenir, dans les expériences précédentes, de la présence de cellules de levûre caséeuse dans les levûres hautes commerciales, cellules que le

---

(1) Toutefois il ne faut pas exposer à la chaleur, dans les conditions susdites, la levûre caséeuse quand elle est trop jeune, par exemple lorsqu'elle commence à se développer, dans les premiers jours après son ensemencement. Dans ce cas, elle peut périr, sans doute à cause de la tendreté de ses tissus. A la fin d'une fermentation et même plusieurs mois après, elle peut être impunément portée à 50° : elle ne meurt pas.

La levûre basse résiste aussi à cette température de 50° dans le milieu en question.

microscope, sans doute à cause de leur petit nombre, serait impuissant à déceler, mais qui existeraient néanmoins et qui seules se régénéreraient après le chauffage.

Le fait suivant vient à l'appui de cette conclusion et tend à prouver en outre que, dans les bières hautes anglaises de *pale-ale,* la levûre caséeuse pourrait bien jouer un rôle très-important. J'ai semé, toujours dans le milieu dont il s'agit, le dépôt d'une bouteille de bon *pale-ale* d'Angleterre. Après le chauffage, la levûre s'est régénérée, et j'ai obtenu une très-belle levûre caséeuse, représentée dans la *fig.* 47. Les deux cellules om-

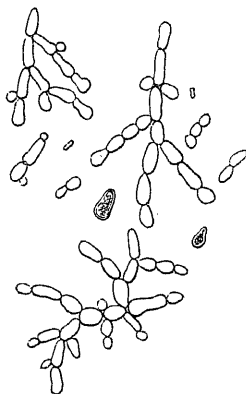
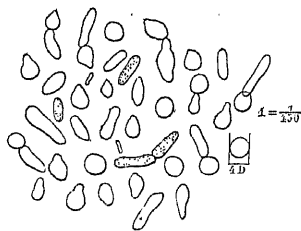
Fig. 47.

brées sont deux cellules mortes qui n'ont pu se rajeunir. Il y a,

Fig. 48.

en outre, deux petits articles de ferment lactique. La levûre semée était naturellement impure. Cela prouve, pour le dire en

passant, que la levûre lactique a résisté également dans le milieu employé à la température de 50°. La levûre semée est représentée dans la *fig.* 48; elle rappelle bien certaines formes de la levûre caséeuse. Parmi les globules translucides très-jeunes, quelques-uns étaient vieux, jaunâtres, granuleux. Ceux-ci probablement appartenaient à la levûre de fabrication. Or leur forme les éloigne de la levûre haute proprement dite et les rapproche, au contraire, de ceux de plus récente formation auxquels, sans nul doute, la bière, depuis sa mise en bouteille, devait son gaz et sa mousse. Toutes ces circonstances portent à penser que la levûre caséeuse fait partie de certaines levûres industrielles, et notamment dans le *pale-ale* de *Burton on Trent* des célèbres brasseries Bass et Allsopp. La levûre caséeuse est encore une levûre haute, c'est-à-dire montante.

§ V. — D'un nouveau genre de levures alcooliques. Levures aérobies.

J'ai parlé précédemment des recherches que j'avais entreprises sur la question de savoir si le *mycoderma vini* ou *fleurs du vin,* si le *mycoderma cerevisiæ* ou *fleurs de bière,* qui poussent indifféremment sur tous les liquides fermentés, n'étaient pas susceptibles de se transformer en véritable levûre alcoolique. On connaît le résultat auquel je suis arrivé : ces mycodermes ne se transforment pas en levûre proprement dite ; dans les circonstances où cette transformation a paru se produire, la levûre formée était née de germes apportés par l'air ou par les ustensiles dont on avait fait usage. Nous avons seulement constaté que le *mycoderma vini* submergé devenait propre à faire fermenter le sucre par suite d'une vie continuée de ses cellules en dehors des combustions dues au gaz oxygène libre, mais sans qu'il y eût génération de nouvelles cellules.

En même temps que je me livrais à ces recherches, j'en poursuivais d'autres, relatives à la proposition réciproque de celle que je viens de rappeler, c'est-à-dire, sur la possibilité de la transformation de la levûre en *mycoderma vini* ou *cerevisiæ*.

Les expériences à ce sujet ont consisté surtout dans des tentatives variées d'épuisement de la levûre et de rajeunissement ultérieur de la plante, épuisement produit, soit par l'eau sucrée en excès, soit par des cultures dans l'eau de levûre non sucrée, où j'essayais de faire perdre à la levûre tout pouvoir fermentant. Ensuite, je la faisais développer de nouveau dans des liquides nutritifs très-aérés, afin de voir comment elle se régénérait et si sa nouvelle forme n'était pas celle du mycoderme. La levûre épuisée comme ferment, n'ayant plus d'action sur l'eau sucrée pure, se reproduisait dans des milieux fermentescibles contenant les principes propres à la nutrition de la levûre, mais je n'ai jamais obtenu que de la levûre et la variété de levûre sur laquelle j'avais opéré; dans aucun cas le *mycoderma vini* ou *cerevisiæ* n'a pris naissance, et je me crois en droit de conclure que, toutes les fois que le *mycoderma vini* apparaît à la surface d'un liquide fermenté ou fermentescible, c'est que le germe en a été apporté par l'air ambiant ou qu'il existait dans le liquide et que ce germe n'a fait que se multiplier, parce que les liquides dont il s'agit sont très-propres à la vie de ce mycoderme.

Dans un laboratoire où l'on fait des recherches sur les fermentations alcooliques, ces germes de *mycoderma vini* sont répandus à profusion. Il est facile de s'en convaincre, car il suffit d'ouvrir dans un tel laboratoire des ballons vides d'air, mais contenant de l'eau de levûre, de l'eau de levûre sucrée, un moût sucré naturel, un liquide fermenté, liquides portés à l'ébullition au moment de la fermeture des ballons, comme il a été dit au Chapitre IV, page 88, et ce sera presque une exception si plusieurs des ballons, après les prises d'air, ne donnent pas lieu, les jours suivants, à la naissance du *mycoderma vini*, surtout si les prises d'air sont faites après qu'on a agité la poussière répandue à la surface des tables ou du plancher du laboratoire, en époussetant ou balayant.

Les expériences dont je viens de rappeler le principe, et qui avaient pour but de rechercher si la levûre ne pouvait être amenée à l'état de mycoderme, m'ont conduit à des résul-

tats très-dignes d'intérêt au sujet de toutes les levûres alcooliques, résultats qui s'appliqueront probablement par la suite à l'ensemble des ferments anaérobies. Obligé par ces expériences mêmes de conserver la levûre très-pure pendant un temps indéterminé, souvent considérable, au contact de l'air pur, j'ai reconnu que la levûre ne périssait pas, du moins tout entière, puisque je pouvais presque toujours la faire rajeunir en la replaçant au contact de nouveau liquide fermentescible. Mais cette régénération de la levûre, et c'est là principalement le fait nouveau qui mérite toute l'attention du lecteur, a lieu de deux manières distinctes : 1° par celles des cellules de la levûre qui ne sont pas mortes ; 2° par des cellules de nouvelle formation.

Prenons un exemple, afin de mieux fixer les idées : dans un de nos ballons à deux tubulures, je fais fermenter du moût de bière pur avec de la levûre également pure. Quand la fermentation est achevée, j'abandonne le liquide à lui-même, sans plus toucher au ballon. Le liquide fermenté recouvre un dépôt de levûre qui est inerte en apparence et aucune trace de *mycoderma vini* ne se montre avec le temps à la surface du liquide. Supposons que, chaque jour, on vienne faire dans ce ballon une prise de levûre, pour la porter dans un ballon de moût de bière : le nouveau ballon entrera en fermentation. La seule différence appréciable qu'offriront ces ballons successifs, dont la mise en levain est distante de vingt-quatre heures, consiste en ce que, toutes choses égales, la fermentation y apparaît de moins en moins promptement. Cela tient, ainsi que je l'ai déjà expliqué, à ce que la levûre dans le ballon de prise éprouve avec le temps, dans chacune de ses cellules, un travail qu'on ne saurait mieux comparer qu'à un vieillissement progressif. Les cellules se remplissent peu à peu de granulations amorphes, leur intérieur jaunit, leur protoplasma se réunit, soit au centre, soit vers les bords ; bref, la vitalité de la levûre s'affaiblit, mais quand on la sort de dessous son liquide fermenté pour la porter dans un nouveau moût sucré, elle redevient peu à peu translucide, puis bourgeonne. Ces effets sont d'autant moins rapides dans leur évolution, que les cellules sont restées plus longtemps à s'user sous le

premier liquide fermenté. On les y laisserait plus longtemps encore qu'elles y trouveraient la mort à la longue, ce qu'on reconnaît à ce que l'ensemencement de la levûre se montre absolument stérile; mais, le plus ordinairement, les choses ne se passent pas rigoureusement comme nous venons de le dire, et il en résulte, pour la levûre conservée pure sous son liquide de fermentation, une faculté de régénération qui se prolonge en quelque sorte indéfiniment. Les cellules de levûre, en effet, après qu'elles ont provoqué la fermentation du liquide, au lieu de rester inertes en ne faisant que vivre sur elles-mêmes et vieillir progressivement, se remettent à bourgeonner, bon nombre du moins. Elles se multiplient de nouveau dans le milieu fermenté sous l'influence de l'air et viennent former à sa surface une sorte de voile mycodermique ou une couronne contre les parois du ballon au niveau du liquide. Souvent on croirait, à s'y méprendre, à l'existence du *mycoderma vini* ou *cerevisiæ*. En réalité, il n'y a jamais une seule cellule de ce mycoderme formée. Vient-on à semer une trace de la nouvelle production dans un moût sucré, elle y provoque la fermentation après avoir bourgeonné et s'être multipliée absolument comme de la levûre ordinaire. Cette production d'aspect mycodermique n'est donc rien autre que de la levûre, puisqu'elle provoque la fermentation; mais c'est de la levûre qui, dans les conditions précédentes, vit à la manière des moisissures, absorbant l'oxygène de l'air et dégageant de l'acide carbonique. Elle apparaît à la surface de tous les liquides fermentés, surtout de ceux qui, comme la bière, contiennent encore des matières hydrocarbonées, et en quantité d'autant plus grande et d'autant plus rapidement que l'accès de l'air est plus facile. J'appelle cette sorte de levûre *levûre aérobie* ou *levûre-moisissure*.

Il est facile de comprendre pourquoi ce genre de production n'a point encore été signalé. Les conditions de notre expérience sont nouvelles pour divers motifs; on n'avait jamais eu l'occasion de faire fermenter un liquide sucré à l'aide de levûre pure, absolument privée de germes d'organismes étrangers, ni d'exposer indéfiniment un liquide fermenté au contact de l'air pur; d'autre part, tous les liquides fermentés ordinaires abandonnés au con-

tact de l'air donnent asile à leur surface aux *mycoderma vini* ou *aceti*, puis à des moisissures. L'apparition, toujours assez prompte, de ces organismes, a donc sans cesse masqué ou empêché la naissance des levûres aérobies.

Toutes les levûres alcooliques peuvent servir à reproduire l'expérience que nous venons de faire connaître et toutes donnent leur *levûre-moisissure* propre. Un autre fait digne de remarque consiste en ce que ces levûres aérobies reproduisent dans leur bourgeonnement, par l'acte de la fermentation, les formes de la levûre d'origine, du moins en apparence. On ne saurait sous ce rapport les distinguer ; et pourtant, chose assez surprenante, ces deux sortes de levûres ne sont pas identiques. Opère-t-on, en effet, sur une levûre basse, sa levûre aérobie diffère au point de vue physiologique de celle qui lui a donné naissance, c'est-à-dire qu'elle offre diverses propriétés spéciales qu'on ne retrouve point dans la levûre basse d'origine. Dans la plupart de mes expériences, j'ai vu la nouvelle levûre aérobie se comporter comme une levûre haute, montant à la surface, et donnant une bière qui a quelque chose de plus parfumé que la bière de la levûre basse dont elle émane. Enfin les propriétés d'une levûre aérobie ne sont pas propres à une première culture ; elles sont héréditaires. Des cultures répétées de la première levûre aérobie ne les font pas disparaître ; on les retrouve dans ses générations successives.

Néanmoins, je le répète, il serait difficile d'assigner des différences bien sensibles entre les formes de développement des cellules d'une levûre déterminée et celles de sa levûre aérobie. Cela est si vrai qu'on peut même faire produire à la levûre aérobie du *saccharomyces pastorianus* les formes de *dematium pullulans,* que nous avons reconnues être propres à cette levûre, lorsque ses cellules ont été amenées à une certaine structure par un vieillissement prolongé (1). C'est ce qui ressort de l'exemple

(1) Quoique je m'arrête à l'opinion que la levûre aérobie d'une levûre déterminée soit produite par une sorte de transformation des cellules de celle-ci, je reconnais qu'on puisse conserver quelque doute à ce sujet. Les faits, assez inattendus,

suivant qui prouvera, en outre, une fois de plus, combien peuvent varier de formes les cultures d'un même organisme par des changements dans la composition du milieu nutritif.

Le 6 août 1873, je prélève de la levûre *saccharomyces pastorianus* dans un ballon de moût de bière qui achève de fermenter, et j'en sème une quantité à peine sensible dans un nouveau ballon contenant un milieu minéral ainsi composé :

Eau sucrée à 10 pour 100 environ de sucre candi.	150^{cc}
Cendres de levûre........................	0^{gr},5
Bitartrate d'ammoniaque....................	0,2
Sulfate d'ammoniaque......................	0,2

La levûre a commencé à se développer les jours suivants, quoique péniblement, et la fermentation s'est déclarée par la formation d'îlots de bulles à la surface du liquide.

On a laissé le ballon au repos jusqu'au 25 novembre suivant. Ce jour on constate l'existence d'un dépôt très-blanc de levûre qui recouvre les cendres de levûre non dissoutes et une couronne de levûre aérobie au niveau du liquide ; tout le sucre a disparu ; le liquide contient 5,2 pour 100 d'alcool en volume, à la température de 15° ; enfin, grâce à la pureté des produits employés, il n'y a pas trace de moisissures formées, ni *mycoderma vini* ou *cerevisiæ*, à la surface du liquide fermenté, ni vibrions, ni levûre lactique, dans son intérieur.

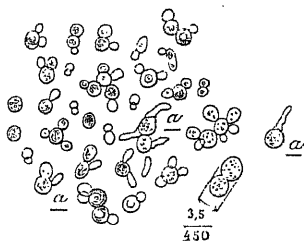
Les milieux minéraux, pour le dire en passant, et cet ouvrage en offre d'autres exemples, se prêtent donc à une fermentation aussi complète des matières sucrées que les moûts de compo-

---

relatifs à la production de la levûre caséeuse doivent rendre très-circonspect et engagent à poser la question de savoir si les levûres aérobies ne font pas primitivement partie, à l'état de mélange, des levûres qui leur donnent naissance. On trouverait un motif de le croire dans ce fait qu'une levûre meurt quelquefois sans qu'on voie apparaître à sa surface de levûre aérobie. Rien de plus naturel dans l'hypothèse que je soulève : c'est qu'alors le mélange supposé n'existerait pas ; mais, d'autre part, si la levûre aérobie est une levûre propre, simplement mélangée à une autre et qu'un changement de conditions fait développer, comment admettre que la levûre aérobie soit si semblable d'aspect et de bourgeonnement à la levûre à la surface de laquelle elle se montre ? Cette ressemblance, au contraire, n'a rien que de très-naturel si ces deux levûres ont une relation d'origine.

sition naturelle. Sans doute, la levûre s'y développe lentement, péniblement, et comme on va le voir avec des formes un peu bizarres ; mais elle s'y développe et elle y provoque la fermentation, sans laisser indécomposée la moindre quantité de sucre. Cela est vrai du moins du *saccharomyces pastorianus,* car il y a d'autres levûres qui, dans de tels milieux, s'arrêtent dans leur multiplication et dans leurs effets sur le sucre. Une condition indispensable de l'achèvement de la fermentation dans un milieu minéral sucré par le *saccharomyces pastorianus* est la pureté absolue des produits et de la levûre. Il faut que celle-ci ne soit en rien gênée dans sa vie et dans son action physiologique par la présence d'autres organismes microscopiques. Nous aurons l'occasion de revenir sur cet important détail de nos cultures.

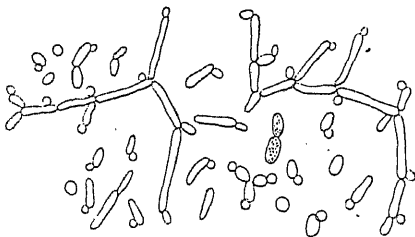
La *fig.* 49 représente l'aspect de la levûre, le 11 août 1873.

Fig. 49.

On n'y reconnaît plus le *saccharomyces pastorianus.* L'aspect général est sphérique, et il y a une foule de paquets de cellules bourgeonnantes, rappelant de loin le bourgeonnement de la levûre haute des brasseries. En *a*, *a*, *a*, on voit des globules qui ont poussé des tubes avortés irréguliers, preuve d'un bourgeonnement pénible. Jamais du moût de bière ou du moût de raisin, employé comme milieu nutritif, ne donneraient lieu à ces cellules monstrueuses.

Le 25 novembre suivant, on dessine de nouveau la levûre, qui ne diffère pas essentiellement de celle de la figure précédente. C'est le même aspect général, et une foule de globules se tiennent encore réunis par deux, par trois ou davantage. La disjonction

n'a pas lieu comme pour les levûres formées dans les moûts naturels. En outre, la levûre est très-irrégulière ; il y a des cellules de toutes tailles. On en sème dans un ballon de moût de bière pur. Le 26, elle n'offre pas encore de développement bien apparent. Le 27, au contraire, quarante-huit heures seulement après la mise en levain, il y a déjà au fond du liquide un fort dépôt blanc de levûre, et la fermentation est si accusée que la surface du liquide est couverte d'une mousse volumineuse. Quelle activité dans la végétation et le rajeunissement de cette semence qui était depuis quatre mois environ abandonnée à elle-même ! C'est la preuve que ce rajeunissement a porté sur de la levûre aérobie ; car celle-ci vivant comme une moisissure ne s'épuise pas à la manière des cellules de levûre ordinaire, par exemple comme s'étaient usées sous leur liquide minéral les cellules qui avaient été semées à l'origine, le 6 août. Ces dernières, devenues presque inertes sous l'eau sucrée, auraient exigé plusieurs jours pour leur rajeunissement. Je le répète, la rapidité du rajeunissement dans l'essai qui précède prouve qu'il a dû avoir lieu sur des cellules de levûre aérobie.

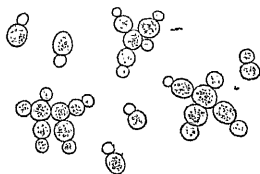
On fait une prise au fond du liquide et l'on dessine la levûre nouvelle (*fig.* 50). Elle couvre le champ de cellules rondes, ovales,

Fig. 50.

d'articles, de tubes rameux, bourgeonnant et pullulant de la manière la plus remarquable et rappelant tout à fait la germination des cellules de levûre, épuisées sous l'eau sucrée, et aussi la germination sous forme de *dematium pullulans* de certaines cellules germes répandues à la surface des fruits sucrés domes-

tiques. On ne se lasserait pas, disent les notes de mes observations originales, de dessiner cette jolie plante qui établit une transition très-nette entre une des levûres cellulaires les mieux caractérisées, le *saccharomyces pastorianus*, et certaines formes de moisissures très-répandues, celles des *dematium* et même de la moisissure la plus commune, le *mucor mucedo* ou *racemosus*, quand celui-ci végète submergé et qu'il est ferment (1); car nous avons ici des chaînes de tubes avec des branches de pareilles chaînes de tubes ou de cellules qui se détachent et vont bourgeonner en tubes ou cellules, tout à fait à la manière des tubes et des conidies du *mucor*.

La levûre aérobie de la levûre haute, quelque soit le milieu qui lui ait donné sa nourriture, ne m'a rien offert de particulier sous le rapport de ses formes. Elle est en cellules d'aspect sphérique comme la levûre haute ordinaire et bourgeonne à la manière de celle-ci.

La *fig.* 51 représente le rajeunissement de cette levûre aérobie.

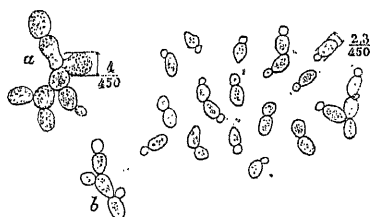
Fig. 51.

On voit que c'est le bourgeonnement rameux et l'aspect sphérique de la *levûre haute* proprement dite.

---

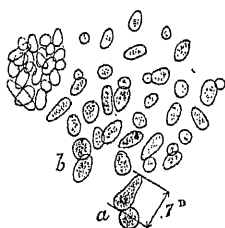
(1) J'insiste sur ce fait, que la *fig.* 50 donne les formes de rajeunissement de la levûre aérobie du *saccharomyces pastorianus*, *lorsque celle-ci a poussé dans un milieu minéral.* Quand elle s'est produite à la surface du moût de bière fermenté, la levûre aérobie dont il s'agit n'a rien de particulier, rien d'irrégulier dans ses formes et son développement; et lorsqu'on vient à la cultiver dans un moût sucré naturel ou dans le moût de bière, elle ne donne pas, comme la précédente, des formes de *dematium*, mais cela tient à ce que, par suite de la nature du premier milieu, où elle s'est mieux nourrie, elle passe tout de suite, dans le second, aux formes de la levûre de dépôt en voie de bourgeonnement ordinaire.

La levûre aérobie de la levûre basse ne donne lieu également à aucune observation spéciale; sa forme, ses dimensions et sa manière de germer se rapprochent beaucoup de celles de la levûre basse d'où elle provient. Toutefois elle montre au début de son rajeunissement, si elle s'est formée dans l'eau sucrée, des groupes de cellules un peu plus volumineuses que celles qui leur succèdent immédiatement.

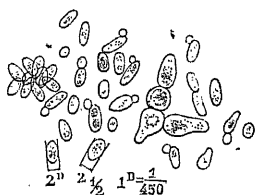
La *fig.* 52 représente la levûre aérobie de la levûre des

Fig. 52.

brasseries à fermentation basse quarante-huit heures après la mise en levain. Les groupes tels que *a* sont très-rares. C'est tout au début, principalement pendant les premières heures du rajeunissement, qu'on les aperçoit. Bientôt après, les cellules qui naissent de ces mêmes groupes ont la grosseur des cellules ovales bourgeonnantes du dessin, *b*.

La *fig.* 53 représente la levûre caséeuse aérobie qui se forme

Fig. 53.

assez rapidement en pellicules épaisses d'aspect gras, à la surface des liquides qui ont fermenté par l'effet de la levûre caséeuse. Les cellules *a* et *b* plus volumineuses sont rares.

Le 27 mai 1875, on sème dans un ballon de moût de bière une trace d'une pellicule grasse de cette nature, formée à la surface d'un ballon qui avait fermenté par la levûre caséeuse, une année auparavant, au mois de mai 1874. Le 30, la fermentation commence à s'accuser par une écume volumineuse et la levûre nouvelle recouvre déjà le fond du ballon. On en fait une prise à l'aide d'un tube effilé et on la dessine : c'est la *fig.* 54. Parmi les cellules qui remplissent le champ, on

Fig. 54.

aperçoit quelques cellules groupées, plus volumineuses. Ce n'est point une levûre particulière qui serait mêlée à l'autre; c'est un exemple nouveau de ce fait que des cellules vieilles qui se rajeunissent, surtout quand elles ont vieilli sous l'eau sucrée, comme nous l'avons fait observer tout à l'heure pour la levûre aérobie de la levûre basse, commencent par des formes plus volumineuses ou allongées auxquelles succèdent promptement les formes ordinaires, plus grêles, propres à la levûre dont elles sont issues. Nous avons vu combien cet effet était prononcé et exagéré pour la levûre *saccharomyces pastorianus*.

Je signalerai encore les formes de la levûre aérobie, fournie par la levûre que j'ai décrite précédemment sous le nom de *nouvelle levûre haute*. La *fig.* 55 représente cette levûre aérobie, dessinée le 27 novembre 1873 et formant une pellicule un peu grasse et humide à la surface d'un ballon de moût de bière fermenté, qui avait été mis en levain le 21 juillet précédent. On dirait de la levûre haute ordinaire, mais c'est une illusion. Rien de plus différent que ces deux levûres.

Le 27 novembre 1873, on en sème une trace dans un ballon de moût de bière. Dès le 29, à la température de 25°, un

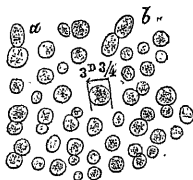
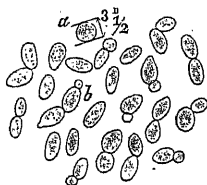
Fig. 55.

fort dépôt de levûre est formé et toute la surface du liquide est couverte de mousse de fermentation. On prélève un peu de la levûre du dépôt que l'on dessine. Elle est représentée *fig.* 56. Le champ est couvert de cellules ovales qui ont beau-

Fig. 56.

coup d'uniformité; c'est l'aspect de la levûre d'origine figurée page 195; çà et là, on rencontre quelques cellules plus grosses, telles que *a*, *b*, ce qui s'accorde encore avec la remarque que nous faisions tout à l'heure sur les formes de rajeunissement des cellules vieillies, au début d'un nouveau bourgeonnement.

Les levûres aérobies sont assez distinctes les unes des autres pour qu'on puisse souvent les reconnaître par l'aspect physique qu'elles offrent à la surface des liquides. L'aérobie du *saccharomyces pastorianus* forme une couronne de cellules à la surface des liquides contre les parois des vases, couronne qui se détache par la moindre agitation du liquide. Sa vitalité se conserve pendant des années.

L'aérobie de la levûre haute apparaît en petits mamelons isolés à la surface du liquide fermenté. Son développement est pénible, et elle meurt assez vite.

L'aérobie de la levûre basse forme une couche qui ne se tient pas ; à la moindre agitation, elle tombe au fond du liquide, en pluie de très-petits fragments irréguliers qui ne se délayent pas en tombant. Elle vit longtemps si l'air a un libre accès dans les vases.

L'aérobie de la levûre caséeuse donne une pellicule continue, qui devient épaisse, d'aspect gras, qui se déchire en fragments quand on l'agite. Elle vit très-longtemps et épaissit de plus en plus sous l'influence de l'air.

Une question se présente assez naturellement à l'esprit : les levûres hautes dont nous avons parlé, celle de l'industrie propre à la fermentation haute des brasseries et celle que j'ai appelée *nouvelle levûre haute,* ne seraient-elles pas des levûres aérobies de levûres basses ? Je serais disposé à croire que la levûre que j'ai appelée *nouvelle levûre haute,* au paragraphe précédent, pourrait bien être la levûre aérobie de la levûre basse des brasseries alsaciennes ou allemandes. J'ai étudié par comparaison cette nouvelle levûre haute et la levûre aérobie de la levûre basse. Elles se ressemblent beaucoup d'aspect, de bourgeonnement et pour le goût et la qualité de leurs bières. Cependant, sous ce dernier rapport, je n'ai pas trouvé l'identité absolue, et c'est encore sous forme de doute que j'assimilerais ces deux levûres.

Quant à la véritable levûre haute des brasseries, on pourrait présumer également, tant par sa propriété de monter à la surface pendant la fermentation que par le goût et l'arome de sa bière, qu'elle est la levûre aérobie d'une levûre basse ; mais je ne saurais dire quelle est celle-ci, où l'on pourrait la trouver et si même elle existe réellement.

En rédigeant ces lignes, il me vient une idée qui mériterait une étude expérimentale suivie. Quelles seraient les propriétés de la levûre aérobie d'une levûre aérobie? Certains faits tendraient à faire croire que ces levûres ne sont pas plus les mêmes

que ne sont identiques une levûre basse et sa levûre aérobie. S'il en était ainsi, il serait fort curieux de comparer les propriétés d'une série indéfinie de levûres aérobies provenant toutes d'une même origine. Je trouve dans mes notes d'observation qu'une levûre aérobie de deuxième génération a donné une bière différente de la bière de la levûre de première génération et tellement parfumée qu'en entrant au laboratoire, où quelques litres seulement de cette bière étaient en fermentation, on percevait une odeur sensible.

§ VI. — Purification des levures commerciales.

J'ai déjà fait observer que les études du Chapitre précédent exigeaient impérieusement l'emploi de levûres tout à fait exemptes de germes d'organismes étrangers, et combien, si cette condition n'était pas remplie, il serait impossible de suivre pendant des semaines, des mois et des années, les changements éprouvés par une levûre au contact de l'air, soit dans l'eau sucrée, soit dans le liquide que cette levûre a fait fermenter. Il n'est pas moins nécessaire que les moûts sucrés employés soient eux-mêmes exempts d'impuretés, et que l'air qui se renouvelle sans cesse à la surface des liquides arrive toujours pur. Ces dernières conditions sont réalisées par l'usage de nos ballons à deux tubulures, dont le laboratoire, livré à ce genre de recherches, doit être muni, prêts à servir, et contenant les diverses sortes de liquide dont on peut avoir besoin.

Généralement, les inconvénients de l'impureté d'une levûre ne se manifestent pas tout de suite, parce que la levûre-semence est ordinairement en proportion énorme, relativement aux germes étrangers dont elle peut être souillée, à tel point que l'observation microscopique peut être impuissante à révéler ces derniers. Or, c'est un fait d'observation que l'abondance d'une culture nuit à une autre plus restreinte, parce que la première s'empare au préjudice de la seconde des matières nutritives, particulièrement de l'aliment oxygène. Il en résulte que, lors-

qu'on met en levain un liquide sucré avec une levûre commerciale, la levûre semble apparaître seule dans les premiers temps, et l'on est porté à croire à la pureté de la semence. Toutefois, cela suppose que les conditions extérieures ou de milieu sont également propres à la culture de la levûre et de ses organismes d'impureté ; car, si elles étaient plus appropriées à la nutrition de ces derniers, les productions étrangères pourraient se montrer dès l'origine. C'est ce qui arrive infailliblement, par exemple quand la multiplication de la levûre est languissante. Dans tous les cas, après que la semence principale s'est développée, en d'autres termes, lorsque le liquide sucré a fermenté, le nouveau liquide profondément modifié par la fermentation devient impropre à la culture de la levûre, et c'est alors que les semences d'impuretés, ferments divers de maladies, spores de moisissures ou de mycodermes commencent ou poursuivent leurs évolutions, plus rapides ou plus lentes, au gré de l'appropriation plus ou moins favorable des conditions de leur existence avec la composition du milieu et la température ambiante.

Telle est également l'explication de la rapide altération de la levûre des brasseries, abandonnée à elle-même après la fermentation. Cet amas de cellules sans aliments, dont la vie de plus en plus difficile n'est plus entretenue que par la substance même des cellules, laisse un champ libre au développement des germes étrangers. De là, la prompte putréfaction de la levûre, toujours corrélative de la pullulation des organismes qui s'y trouvaient mêlés et qui rencontrent dans le liquide où baignent les cellules et dans ces cellules elles-mêmes tous les aliments nécessaires à leur existence. Rien ne saurait mieux confirmer ce que j'avance que les faits exposés dans les paragraphes précédents, où nous avons vu, par opposition à ce que je viens de dire, une levûre pure rester indéfiniment abandonnée au contact de l'air pur, sans éprouver aucune altération putride, ni manifester d'autres changements que ceux qui résultent des combustions propres à des cellules vivantes livrées à elles-mêmes, à l'état humide, au contact du gaz oxygène.

Dans la pratique de l'industrie de la bière, dès que la fer-

mentation est achevée, ou mieux, dès que se produisent certains caractères physiques, par exemple le facile éclaircissement de la bière ou ce que, en termes techniques, on appelle la *cassure de la levûre*, on procède au soutirage; après quoi, on recueille la levûre qui est déposée en couche plastique au fond des cuves ; on la lave et on la conserve sous l'eau, dans un endroit frais, pour l'employer de nouveau vingt-quatre ou quarante-huit heures après. C'est toujours à regret qu'on attend plus longtemps avant de s'en servir, surtout en été. On comprend que de telles pratiques ne laissent pas aux germes étrangers mêlés à la levûre le temps de vivre et de multiplier leurs générations successives; mais, si les conditions de la pratique industrielle touchant le maniement de la levûre s'opposent dans une certaine mesure au développement des germes d'impuretés qui la souillent, ces germes sont présents et passent, tant ils sont ténus, en plus ou moins grand nombre dans la bière, quelle que soit la limpidité à laquelle on l'amène par les soutirages. Dans la bière, ils n'attendent plus que des conditions favorables à leur existence pour se développer et pour modifier, plus ou moins profondément, les qualités de cette délicate boisson.

Le 15 décembre 1872, je fais acheter dans divers grands cafés de Paris des échantillons de bière, au nombre de neuf, provenant des meilleures brasseries de Strasbourg, de Nancy, de Vienne, de Burton. Après un repos de vingt-quatre heures, je décante tous ces échantillons et je sème une goutte des dépôts dans des ballons de moût pur. Le 2 janvier 1873 j'étudie les levûres formées dans ces moûts, qui avaient été placés dans une étuve à 20°, et je déguste les bières. Toutes ont un goût détestable, toutes montrent des ferments de maladies.

En même temps et par comparaison, j'avais ensemencé d'autres ballons de moût avec des levûres pures. Aucune des bières de cette série n'a pris de mauvais goût; aucune n'a donné lieu à des ferments étrangers; elles n'étaient qu'*éventées*.

Lorsqu'on passe en revue les méthodes de l'art du brasseur, on est surpris de l'état de perfectionnement relatif auquel l'a amené la lente expérience des années, quoique, dans la question

des maladies de la bière, on n'ait jamais eu pour guide les principes rigoureux que j'expose dans cet ouvrage. J'en ai déjà donné des preuves au Chapitre premier.

La bière est soutirée et séparée de sa levûre, avant que la fermentation soit entièrement terminée. Pourquoi? C'est principalement parce qu'il est nécessaire que la bière, après qu'elle a été logée dans ses tonneaux de garde, devienne le siége d'un travail ultérieur, d'une fermentation complémentaire, afin qu'elle ne soit pas envahie par les parasites dont nous venons de parler, ce qui ne manquerait pas d'arriver si la bière était tout à fait au repos. Non-seulement on soutire la bière des cuves de fermentation avant que son *atténuation* soit portée au maximum, on la loge en outre dans des caves sensiblement plus froides que la température de fermentation, quoique celle-ci soit déjà très-basse pour les bières à fermentation basse. Les caves ont 2 à 3 degrés seulement. C'est encore, ainsi que je l'ai fait observer au Chapitre premier, pour s'opposer au développement des parasites.

Malheureusement, les manipulations auxquelles le commerce doit soumettre la bière ne peuvent pas s'accommoder jusqu'au bout de ces exigences. Arrive le moment de la vente, il faut faire voyager la bière par toutes les saisons et la loger dans les caves de débit où la bière peut séjourner plus ou moins de temps, parce que la consommation est variable. Importante aujourd'hui, si la température extérieure est élevée, elle sera très-restreinte demain, si la pluie et le froid sont survenus, parce que la bière est, dans nos climats du moins, une boisson de saison chaude. De là, une prolongation possible du séjour de la bière dans les caves des débitants ou des consommateurs. On a bien imaginé de ne loger la bière que dans de très-petits tonneaux, qui permettent un renouvellement fréquent de la provision, de l'expédier par grande vitesse et pendant la nuit, de la faire voyager même dans des wagons à double enveloppe pleine de glace, au moins la double enveloppe du plafond qui fait tomber sans cesse de l'air froid sur les tonneaux : ce sont là des palliatifs très-gênants, qui ont l'inconvénient de limiter singulièrement

le commerce de cette boisson et de rendre son prix plus élevé. Il importerait donc extrêmement que la fabrication pût être mise un peu moins à la merci de ces ennemis microscopiques que la bière recèle, qu'en d'autres termes, cette boisson eût moins à craindre les circonstances favorables au développement des germes d'impuretés, dont elle est toujours souillée par l'emploi des procédés actuels.

La question de l'altération du goût de la bière doit être envisagée sous un autre aspect qui ne mérite pas une moindre attention. Nous avons reconnu qu'il existe diverses sortes de bières correspondant chacune à une levûre spéciale qui donne à la bière son goût, son arome, tout ce qui, en un mot, fait sa valeur aux yeux du consommateur. Or il arrive très-souvent, surtout dans les brasseries mal tenues, et spécialement dans celles où l'on fabrique plusieurs bières, que les levains sont des mélanges de diverses levûres. L'inconvénient de ces mélanges se fait sentir déjà dans la fabrication, et plus encore dans la bière après la fabrication. Les brasseurs des bonnes brasseries à fermentation basse, qui fabriquent dans les mois d'hiver la bière dite *de garde* qu'on consomme en été, jusqu'en août et septembre, redoutent beaucoup le développement d'un goût vineux dans ces bières. D'après mes observations, ce goût vineux paraît dû principalement à un mélange, avec la levûre de fabrication, du *saccharomyces pastorianus* ou de ses variétés, dont le propre est de donner aux bières, avec le temps, un goût vineux prononcé. Si cette levûre n'existe pas à l'état de mélange, et je parle ici d'une absence absolue, mathématique si j'ose ainsi dire, la bière obtenue vieillit avec le temps dans les caves de garde, sans prendre le goût vineux proprement dit.

Ce goût vineux est surtout développé dans les bières anglaises conservées. Or il est facile de se convaincre que, dans les bières anglaises, après leur fabrication, le *saccharomyces pastorianus* et la levûre que j'ai appelée *caséeuse,* qui donne également un goût particulier, se forment presque exclusivement, quoique la levûre de fabrication des bières anglaises soit

une levûre essentiellement distincte du *saccharomyces pastorianus*.

La fermentation complémentaire qui prend naissance dans les bières haute et basse logées en fûts après fabrication est due très-souvent à cette même levûre, reconnaissable à ses articles allongés, quelquefois plus ou moins rameux, et le goût de la bière en est modifié.

J'ajoute que l'ensemble de mes recherches m'a convaincu que la levûre haute, pas plus que la levûre basse, ne peuvent se transformer dans la levûre dont il s'agit, et que, toutes les fois qu'une bière issue de levains hauts ou bas fournit un développement de levûre étrangère, c'est que celle-ci existait dans ces levûres à l'état de germes, souvent difficiles à reconnaître au microscope, tant ils sont peu abondants. La meilleure démonstration qu'on puisse en donner consiste dans cette observation, qu'une bière de levûre haute ou de levûre basse, abandonnée à elle-même pendant des mois et des années, ne montre jamais dans ses dépôts autre chose que sa levûre de fabrication, si celle-ci était pure, circonstance qui n'arrive dans aucun cas pour les bières commerciales actuelles, quelles qu'elles soient, de quelque brasserie qu'elles émanent. Toutes fournissent avec le temps, outre les ferments de maladie, des levûres essentiellement différentes des levûres de leur fabrication, et notamment le *saccharomyces pastorianus;* il faut attribuer ce résultat à l'impureté habituelle des levûres commerciales.

On doit redouter, dans certains cas, les mélanges des levûres, presqu'à l'égal des ferments de maladie, quand ceux-ci n'ont pas pris une grande extension. Maintes fois j'ai vu mes fermentations envahies par des levûres absolument différentes de celles que j'avais employées à l'origine. La répétition des cultures et, en particulier, quand on modifie la composition des milieux fermentescibles, en vue d'obtenir tel ou tel résultat, amène souvent ces complications. Pendant très-longtemps j'ai été impuissant à saisir la signification de quelques-unes de mes expériences, parce que les faits que je viens d'exposer, ainsi que ceux du paragraphe précédent, m'avaient échappé;

leur ignorance n'a pas été sans grande influence sur les difficultés et la longueur de mes recherches. Lorsque cet ouvrage paraîtra, il n'y aura pas moins de cinq années que mon travail sera commencé, et je comprends mieux que personne que je pourrais y consacrer encore un long temps; mais, comme le dit Lavoisier, on ne donnerait jamais rien au public si l'on voulait atteindre le bout de la carrière, qu'on entrevoit toujours plus lointain, à mesure qu'on multiplie les efforts pour s'en rapprocher.

Les observations qui précèdent nous prouvent l'extrême importance de l'emploi des levains purs pour obtenir, soit des bières franches de goût si l'on continue de suivre les procédés actuellement en usage dans la brasserie, soit des bières de très-bonne conservation, moins sujettes aux avaries, moins dépendantes des exigences commerciales actuelles, et pouvant braver impunément les conditions de développement des levûres étrangères à une bonne fabrication, ou les ferments de maladie.

Dans le cas du mélange des levûres alcooliques, on peut profiter quelquefois, pour opérer leur séparation, de leur inégale aptitude à conserver leur vitalité dans les milieux où on les cultive.

Le 17 décembre 1872, j'ai préparé une poussière de levûre de Hollande commerciale et de plâtre, comme il a été dit au Chapitre III, § VI. La levûre de Hollande est de la levûre haute.

Le 25 juillet 1873, une parcelle de ce mélange desséché est semée dans un ballon de moût de bière pur. Dès le 27 juillet, le liquide montre à sa surface des îlots de bulles de fermentation. Le 2 août, la fermentation est achevée. La levûre, observée au microscope, *paraît pure* et formée par les cellules sphériques d'une belle levûre haute. On vide le liquide fermenté avec toutes les précautions voulues, en laissant dans le ballon la presque totalité du dépôt de levûre et seulement 1 ou 2 centimètres cubes de bière.

Le 15 novembre suivant, la levûre, examinée de nouveau, paraît toujours pure et se montre encore formée de cellules rondes de levûre haute, qui ont pris seulement un aspect très-vieux, à doubles contours apparents et remplis de granulations rassemblées irrégulièrement vers le centre. Ce sont là les caractères de cellules mortes ; mais il se pourrait que, dans le nombre, il y en eût encore de vivantes. Pour m'en assurer, je fais une prise de cette levûre que je transporte dans un ballon de moût de bière pur. Le 19, un peu de mousse de fermentation apparaît à la surface du liquide. J'examine la levûre, et je m'aperçois que ce n'est plus du tout de la levûre haute, mais une petite levûre assez irrégulière où dominent les articles du *saccharomyces pastorianus*, telle qu'elle s'offre en cultures répétées, successives. Il n'y a pas à s'arrêter à l'idée que nous assistions ici à une transformation d'une levûre dans une autre. L'explication des faits est beaucoup plus simple. La levûre de Hollande employée devait être impure et renfermer des traces de levûre étrangère et notamment de *saccharomyces pastorianus*. Réduite en poussière sèche, le 17 décembre 1872, à la faveur de la poudre de plâtre, les deux ou plusieurs sortes de cellules qui la composaient ont conservé leur vitalité, encore persistante le 25 juillet 1873. Cultivées alors dans le moût de bière, elles s'y sont multipliées. Le *saccharomyces pastorianus* s'est rajeuni, mais sa proportion, relativement à la levûre haute de Hollande, est restée si faible que les observations microscopiques ne l'ont pas décelée dans l'observation du 2 août suivant, lorsque le ballon a été décanté. Depuis le 2 août jusqu'au 15 novembre, la levûre haute a dû périr intégralement, les cellules du *saccharomyces pastorianus*, au contraire, conservant leur vitalité, et celles-ci se sont seules multipliées dans le ballon de moût ensemencé le 15 novembre. C'est là un exemple de séparation de levûres alcooliques, par suite de l'inégale résistance qu'elles offrent quelquefois dans les conditions spéciales où elles sont placées.

On peut conclure encore que, si, le 2 août 1873, on eût préparé de la bière avec la levûre haute, paraissant seule développée

et pure, cette bière, une fois faite et conservée en tonneau ou en bouteille, n'aurait pas manqué de fermenter ultérieurement par un développement de *saccharomyces pastorianus*.

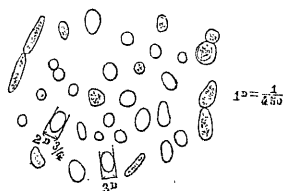
Considérons comme autre exemple de purification du même genre les diverses levûres de la vendange. Au début de la fermentation du moût de raisin, apparaît constamment la levûre apiculée, plus ou moins associée ensuite au *saccharomyces pastorianus*, devant lequel la multiplication de l'apiculée s'arrête promptement. Le *saccharomyces pastorianus*, à son tour, cède peu à peu la place à la levûre que j'ai appelée la *levûre ordinaire du vin*, et que le D[r] Rees a nommée *saccharomyces ellipsoïdeus*. On peut consulter, au sujet de ces variations dans les proportions des levûres du vin, la Note que j'ai publiée en 1862, dans le *Bulletin de la Société chimique*. Ces diverses levûres se gênent donc mutuellement. Si le *saccharomyces apiculatus* était seul, il se multiplierait bien davantage, et à lui seul ferait fermenter le moût de raisin. Par la filtration du moût, ainsi que je l'ai déjà fait observer, on obtient ce dernier résultat.

Il résulte de ce qui précède que la partie principale des dépôts de levûre dans le marc des raisins fermentés, à l'époque du premier soutirage du vin, que, dans le Jura, on appelle l'*entonnaison*, est formée par la levûre ordinaire du vin, le *saccharomyces ellipsoïdeus* et qu'on y rencontre très-difficilement au microscope des cellules de levûre apiculée, parce qu'elles y sont délayées dans une multitude infinie des cellules des autres levûres (1).

J'ai fait venir d'Arbois, le 20 janvier 1875, de la levûre de vin sortant d'un grand foudre de la dernière récolte précédente, soutiré le 18 janvier. La levûre très-irrégulière était formée de cellules, les unes très-vieilles, jaunâtres, remplies de granulations et, parmi celles-ci, un certain nombre en articles un peu allongés, probablement de *saccharomyces pastorianus*; les

(1) J'ai des raisons de croire que les rapports dans les proportions de ces levûres dépendent beaucoup des conditions climatériques qui ont précédé l'époque de la vendange, de l'état de sécheresse ou d'humidité, ainsi que de la température au moment de la cueillette du raisin, et aussi de la nature des cépages.

autres cellules étaient translucides et paraissaient encore jeunes. Ce mélange des deux levûres est représenté *fig.* 57. Sans

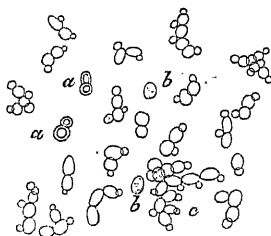
Fig. 57.

nul doute, en cherchant bien, on aurait trouvé également des cellules du *saccharomyces apiculatus.*

Le 21 janvier, on sème un peu de cette levûre brute dans un ballon d'eau sucrée. Le 24, on décante le liquide et l'on rajoute de l'eau sucrée sur le dépôt de levûre. Température extérieure, 12°. Le 27, on fait une prise dans le dépôt qu'on porte dans un ballon de moût de bière. Les jours suivants, il y a développement de levûre et fermentation; mais on n'obtient ni les formes de la grosse levûre des fruits, ni l'aspect de la levûre plus petite de la *Pl. XI.* Le *saccharomyces pastorianus,* représenté dans la levûre de semence par les vieilles cellules granuleuses allongées, ne s'est donc pas rajeuni. Dans la crainte qu'on pût attribuer ce résultat à ce que l'épuisement, qui n'a duré que quelques jours, était insuffisant, je porte le ballon d'eau sucrée à 25 degrés, jusqu'au 20 février. Ce jour, on sème une prise de cette levûre dans du moût de bière. Le lendemain son rajeunissement est très-sensible; mais on n'aperçoit pas davantage au microscope les formes dont nous venons de parler, et de nouvelles cultures successives n'ont pas fait apparaître le *saccharomyces pastorianus.*

La *fig.* 58 représente la levûre formée, issue évidemment des cellules translucides de la *fig.* 57, cellules qui devaient être formées par la levûre ordinaire du vin, le *saccharomyces ellipsoïdeus.* C'est encore un exemple de séparation naturelle de le-

vûres, par la mort d'une ou deux d'entre elles ou par la grande différence survenue dans les temps de leur rajeunissement.

J'ai cultivé cette levûre (*fig*. 58) sur une assez grande échelle

Fig. 58.

dans le moût de bière. Elle a fourni une bière particulière, vineuse, un véritable *vin d'orge*. C'est une preuve, pour le dire en passant, que le vin ordinaire, son goût, ses qualités, dépendent certainement, pour une grande part, de la nature spécifique des levûres qui se développent pendant la fermentation de la vendange. On doit penser que, si l'on soumettait un même moût de raisin à l'action de levûres distinctes, on en retirerait des vins de diverses natures. Au point de vue des applications pratiques, des études nouvelles devraient être entreprises dans cette direction. Les méthodes de culture et de manipulation des levûres exposées dans cet ouvrage fourniraient des ressources précieuses pour ce genre de recherches.

La purification des levûres peut se faire par des méthodes variées, qu'il s'agisse du mélange des levûres entre elles ou qu'on ait pour principal but l'éloignement des ferments de maladie, germes de vibrions, de levûre lactique, de levûre filamenteuse du *tourné*, de *mycoderma aceti* ou de *mycoderma vini*.

Un moyen d'une application commode consiste à semer la levûre dans l'eau sucrée à 10 pour 100, qu'on a soumise à une ébullition préalable et conservée après son refroidissement dans les ballons à deux tubulures déjà si souvent décrits. L'eau sucrée

est un milieu très-épuisant pour les levûres et les organismes qui y sont mélangés. Une foule de cellules y périssent et il y a beaucoup de chance pour que les germes étrangers, toujours rares relativement au grand nombre de cellules de levûre, se trouvent parmi les individus qui meurent, ou dans le nombre de ceux qui vieillissent assez pour que, si l'on vient à semer la levûre, après son épuisement, dans du moût de bière, les cellules restées plus jeunes se développent seules.

L'addition d'un peu d'acide à la solution sucrée, de 1 à 2 millièmes d'acide tartrique par exemple, facilite souvent la destruction de certains germes d'impureté.

Les *mycoderma aceti* et *vini*, ne trouvant pas un aliment convenable dans l'eau sucrée, disparaissent assez vite, par des répétitions de cultures alternatives dans l'eau sucrée et le moût.

On peut se servir également, comme je l'ai indiqué ailleurs, au lieu de ballons, de cuvettes plates, simplement recouvertes de lames de verre, où l'on cultive la levûre dans du moût de bière, après qu'elle a passé plus ou moins de temps dans l'eau sucrée. Le succès de ces purifications consiste principalement en ce que le moût est alors très-aéré, et l'expérience prouve que les principaux ferments de maladie de la bière sont autant gênés dans leur développement par l'accès de l'air, qu'ils sont favorisés par son absence, tandis que c'est l'inverse pour les levûres alcooliques. C'est à tel point que, en opérant avec les levûres commerciales, qui sont toujours impures, on n'aurait jamais, suivant moi, pu réussir à faire de la bière en vase clos, et de fait on n'y est point parvenu, quoiqu'on l'ait essayé souvent. Cette méthode exige, beaucoup plus que les méthodes actuellement en usage, l'emploi des levûres pures. On a donc cet avantage, en cultivant les levûres en cuvette plate, d'activer la multiplication des levûres alcooliques et de nuire à la plupart des ferments de maladie, excepté toutefois aux mycodermes; mais de tous les ferments de maladie, ce sont ceux dont on se débarrasse le plus facilement en répétant les cultures avant qu'ils n'apparaissent. Néanmoins, les ballons à deux tubulures, qui sont, d'ailleurs, également très-aérés au début, sont préférables aux cu-

vettes, parce qu'ils éloignent complétement les germes en suspension dans l'air ambiant, ainsi que ceux de la levûre *saccharomyces pastorianus*.

Un autre moyen nous est suggéré par les curieux résultats dont nous avons déjà parlé et qu'on observe quand on sème des levûres dans un moût de bière rendu acide et alcoolique par addition de bitartrate de potasse et d'alcool. L'expérience prouve que plusieurs des ferments de maladie résistent difficilement à des cultures répétées dans le moût de bière, additionné de 1 $\frac{1}{2}$ pour 100 d'acide tartrique et de 2 à 3 pour 100 d'alcool. Mais ce mélange est propre à la vie du *saccharomyces pastorianus*, et il faut toujours s'assurer que cet organisme ne s'est pas, chemin faisant, mis à la place de la levûre qu'on essaye de purifiêr.

Les cultures à très-basse température favorisent beaucoup l'éloignement de toutes les levûres étrangères à la levûre basse, et il faut y recourir quand il s'agit de purifier cette levûre.

Un moyen plus rapide peut-être de purification, quoique non préférable à certains égards, consiste dans l'usage de l'acide phénique, c'est-à-dire qu'on cultive la levûre à purifier, dans du moût additionné, pour 100 centimètres cubes, d'environ 10 à 12 gouttes d'eau phéniquée à 10 pour 100 d'acide. L'action de l'acide phénique, toujours combinée avec celle de l'oxygène de l'air au début, tend à détruire la vitalité de beaucoup des cellules semées et également la vitalité de la levûre qu'on a intérêt à garder; mais, dans le nombre des cellules qui s'altèrent, se trouvent en proportion relative plus grande celles qui sont les plus rares, c'est-à-dire celles des organismes d'impureté. Si l'acide ne les détruit pas, il retarde beaucoup leur développement et les cellules de levûre qui se multiplient toujours en grand nombre (car la fermentation se déclare malgré l'acide, si l'acide est ajouté en petite quantité) étouffent peu à peu, dans les cultures successives, les germes étrangers.

Par ces divers artifices, employés isolément ou combinés les uns avec les autres, on arrive généralement à obtenir très-pure la levûre qu'on désire purifier. Inutile d'ajouter qu'il est tou-

jours bon de rechercher, pour les purifications, des échantillons déjà aussi purs qu'il est possible de les obtenir. Pour ce choix, le microscope est le meilleur guide, mais il est insuffisant. On se tromperait étrangement, si l'on croyait à la pureté d'une levûre par cela seul qu'elle semble ne rien contenir d'étranger à sa nature, lorsqu'on la soumet à l'examen de cet instrument.

Le meilleur moyen de s'assurer de la pureté d'une levûre consiste à en faire de la bière dans un de nos ballons à deux cols et à laisser séjourner ce ballon, après la fermentation, dans une étuve à 20° ou 25°. Si la bière, après quelques semaines, n'est pas trouble, si elle n'est pas couverte de fleurs, si son dépôt est pur au microscope, si la bière, enfin, n'est qu'éventée à la dégustation, on peut avoir toute confiance dans la pureté de la levûre qui l'a produite.

Quand on a purifié une levûre, on n'est malheureusement jamais sûr qu'elle n'ait pas éprouvé quelque changement pendant les manipulations auxquelles a donné lieu sa purification. Il est donc indispensable de la mettre à l'épreuve et de rechercher si le goût de la bière qu'elle fournit répond bien au goût que l'on recherche, au goût de la bière d'où l'on a tiré la levûre soumise à la purification. Voici ce qui m'arriva, en 1875, dans la grande brasserie Tourtel, à Tantonville, dans une des séries des essais pratiques que j'y fis au sujet du procédé nouveau de fabrication qui sera exposé au Chapitre VII. J'avais purifié par cultures répétées avec quelques gouttes d'acide phénique de la levûre de la brasserie Tourtel, et j'avais obtenu une levûre d'une pureté irréprochable. Or cette levûre, cultivée à maintes reprises dans la brasserie, pendant l'été de 1875, dans un volume de moût de 6^{hl} à 10^{hl} pour chaque essai, donna toujours une bière ayant un goût persistant de levûre et une *cassure* défectueuse, tout en étant d'une conservation remarquable, qu'elle devait à la pureté de la levûre. La bière résista en effet à des voyages de plus de 100 lieues, par petite vitesse, en fûts ordinaires de 50 à 100 litres de capacité pendant les fortes chaleurs des mois de juin et de juillet et ultérieurement pendant deux mois dans une cave dont la température passa,

pendant cet intervalle, de 12° à 18° C. La température de fermentation avait été de 13°. Dans cette même cave, la bière de la brasserie faite avec le même moût par les procédés ordinaires ne résista pas trois semaines.

A quoi attribuer l'accident dont je viens de parler? Il est vraisemblable que, pendant les manipulations pour la purification, une levûre s'était substituée à la levûre principale. Les levûres commerciales, celles-là même qui satisfont pleinement le brasseur, contiennent le plus souvent des levûres diverses que l'uniformité, dans les conditions du travail de la brasserie, maintient dans leurs proportions relatives, ou à très-peu près, proportions qu'un changement profond dans les cultures peut, au contraire, altérer beaucoup.

CHAPITRE VI.

THÉORIE PHYSIOLOGIQUE DE LA FERMENTATION.

§ I. — Des rapports de l'oxygène avec la levure.

C'est le propre de la Science de réduire sans cesse le nombre des phénomènes inexpliqués. Les fruits charnus résistent à la fermentation tant que leur épiderme n'est pas déchiré. Ils fermentent au contraire promptement lorsqu'ils sont mis en tas, plus ou moins ouverts et qu'ils baignent dans leur jus sucré. Leur masse s'échauffe, se soulève, du gaz acide carbonique se dégage, le sucre disparaît et est remplacé par de l'alcool. D'où proviennent ces phénomènes spontanés, non moins utiles qu'étranges, car l'homme les a fait servir à son usage? Nous savons aujourd'hui que la fermentation est la conséquence du développement, dans les jus sucrés, de cellules végétales, dont le germe est extérieur aux fruits. Il existe plusieurs sortes de ces végétaux cellulaires, à chacun desquels correspond une fermentation spéciale. Les produits principaux de ces fermentations, quoique semblables par leur nature, diffèrent dans leurs proportions et par les substances accessoires qui les accompagnent, ce qui entraîne, toutes choses égales, de grandes variations dans la qualité et la valeur commerciale des boissons alcooliques.

Si la découverte des levûres et de leur nature vivante, si la connaissance de leur origine, suppriment le mystère de l'apparition spontanée des fermentations des jus sucrés naturels,

faut-il cesser de voir, dans ces fermentations, des réactions inexplicables par les lois ordinaires de la Chimie?

Il est facile de se convaincre que les fermentations méritent toujours une place à part dans l'ensemble des phénomènes chimiques et biologiques. Ce qui donne aux fermentations des caractères exceptionnels dont nous commençons à peine à soupçonner les causes, c'est le mode de vie des petites plantes désignées sous le nom générique de *levûres*, mode de vie qui diffère essentiellement de celui des autres végétaux, et d'où résultent des phénomènes également extraordinaires parmi tous ceux que nous offre la chimie des êtres vivants.

La moindre réflexion nous porte à penser que les levûres alcooliques doivent posséder la faculté de végéter et d'agir hors du contact de l'air. Considérons, par exemple, les pratiques de la vendange dans le Jura. Le raisin est déposé au bord de la vigne, dans une cuve où il est égrappé. Lorsque les grains en partie restés intacts, en partie brisés, mouillés par le jus sorti de ces derniers, remplissent la cuve où ils forment ce qu'on appelle, par altération de langage, la *vendange*, on transporte celle-ci, à l'aide de tonneaux, dans de grands foudres placés à demeure dans des caves assez profondes. Les foudres ne sont remplis qu'aux trois quarts de leur capacité. La fermentation s'y déclare promptement, et l'acide carbonique sort par le trou de bonde qui, pour les plus grands foudres, n'a pas plus de 10^c ou 12^c de diamètre. Le vin n'est soutiré qu'au bout de deux ou trois mois. N'est-il pas vraisemblable que la levûre qui fait le vin dans de telles conditions a dû se former, en grande partie du moins, en dehors de l'action de l'oxygène? Sans doute l'oxygène n'est pas tout d'abord complétement absent, et c'est même une nécessité de la manifestation des phénomènes qui vont suivre. Les grains sont détachés de la grappe au contact de l'air, et le moût qui suinte des grains ouverts dissout un peu de ce gaz. Cette petite quantité d'air entraîné dans le moût, à l'origine des opérations, joue un rôle indispensable. C'est à sa présence que les spores des levûres répandues à la surface des grains et du bois des grappes doivent le pouvoir de commencer leur première

évolution (1). Mais cet air, surtout quand on égrappe, est en si faible proportion, celui qui est au contact de la masse liquide est si promptement chassé par le gaz acide carbonique qui prend naissance dès qu'il y a un peu de levûre formée, qu'il est difficile de ne pas admettre que la plus grande partie de la levûre se multiplie hors de toute influence du gaz oxygène libre ou dissous. Je vais revenir sur ce fait, dont l'importance est considérable. Pour le moment, je tiens seulement à faire observer que la simple connaissance des pratiques de certaines localités doit nous porter à conclure que les cellules de levûre, après qu'elles sont sorties de leurs spores, peuvent continuer à vivre et à se multiplier sans l'intervention du gaz oxygène et que les levûres alcooliques ont vraissemblablement un mode de vie tout exceptionnel, qu'on ne rencontre pas habituellement dans les autres espèces végétales ou animales.

Un autre caractère non moins exceptionnel de la levûre et des fermentations consiste dans le faible rapport qui existe entre le poids de levûre formée et le poids de sucre décomposé. Pour tous les êtres connus, le poids de matière nutritive assimilée est du même ordre que le poids des aliments mis en œuvre. L'écart, quand il existe, est relativement faible. Telle n'est point la vie de la levûre. Pour un poids a de levûre formée, le poids de sucre décomposé, nous le prouverons expérimentalement, est $10a$, $20a, \ldots, 100a$ et même plus, c'est-à-dire qu'il est, d'une part, essentiellement variable, suivant des conditions que nous aurons à spécifier et, d'autre part, très-disproportionné au poids de la levûre. Je le répète, la vie de tous les êtres, dans les conditions physiologiques normales, ne montre rien de pareil.

Les levûres alcooliques s'offrent donc à nous comme des plantes qui possèdent, pour le moins, deux propriétés singu-

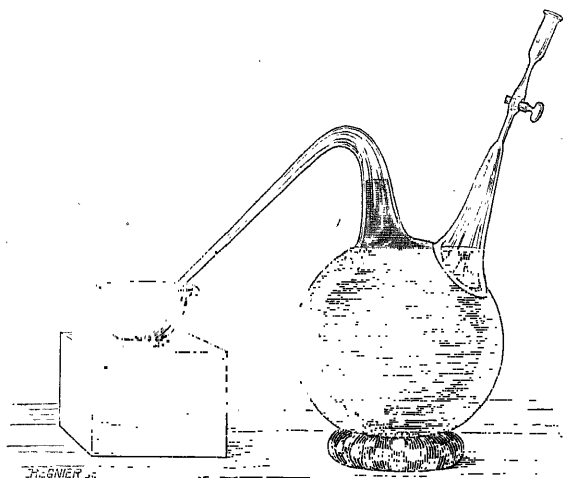
(1) On a remarqué dans la pratique que le non-égrappage de la vendange facilite la fermentation. L'explication de ce fait est encore inconnue. Je ne doute pas qu'il ne faille l'attribuer principalement à ce que la grappe, par les interstices de ses grains, par les intervalles qu'elle laisse dans la masse, augmente beaucoup le volume de l'air mis à la disposition des germes de la levûre.

lières : elles peuvent vivre sans air, c'est-à-dire sans oxygène; elles peuvent provoquer des décompositions dont l'importance, comme poids des produits formés, est en dehors de toute proportion avec le poids de leur substance, et, en outre, le rapport de ces poids est essentiellement variable. Ce sont là des faits d'une telle importance et qui intéressent à un si haut degré la théorie de la fermentation, qu'il est indispensable de chercher à les établir expérimentalement avec toute la rigueur dont ils sont susceptibles.

La levûre est-elle réellement une plante anaérobie, et quels sont les poids de sucre qu'elle peut faire fermenter dans les diverses conditions où on la fait agir? Les expériences suivantes ont été entreprises pour résoudre ce double problème.

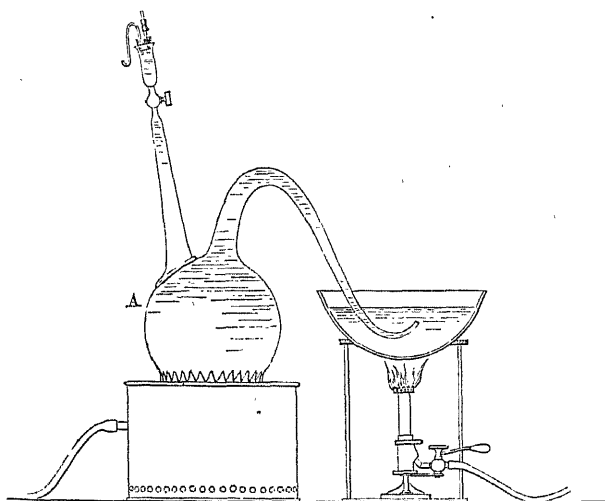
J'ai pris un ballon de 3^{lit} de capacité à deux tubulures, l'une recourbée formant tube abducteur pour les gaz, l'autre droite, munie d'un robinet de cristal, comme l'indique la *fig.* 59, et j'ai rempli complétement ce ballon d'eau de levûre pure sucrée à 5 pour 100 de sucre candi, sans qu'il restât la moindre trace d'air au-dessus du robinet non plus que dans le tube abducteur; mais ce moût artificiel avait été aéré. La tubulure recourbée plongeait dans un vase de porcelaine plein de mercure, établi sur un solide support; dans le petit entonnoir cylindrique qui surmonte le robinet, entonnoir dont la capacité est de 10^{cc} à 15^{cc}, on mit en fermentation, à 20^{o} ou 25^{o}, 5^{cc} ou 6^{cc} du liquide sucré, avec une trace de levûre qui se multiplia rapidement, provoqua la fermentation et forma un petit dépôt de levûre au fond de l'entonnoir au-dessus du robinet. A ce moment, on a ouvert le robinet, et un peu du liquide de l'entonnoir a pénétré dans le ballon, chassant devant lui le petit dépôt de la levûre qui vint former semence pour le liquide sucré contenu dans le ballon. On peut introduire de cette manière aussi peu de levûre qu'on le désire, une quantité pour ainsi dire impondérable. La levûre semée se multiplie rapidement et détermine la fermentation dont le gaz acide carbonique se dégage sur le mercure. En moins de douze jours, tout le sucre avait disparu, la fermentation était complète.

Un dépôt sensible de levûre reposait sur les parois du ballon : recueilli et desséché, il pesait $2^{gr},25$. Il est manifeste que, dans cette expérience, la totalité de la levûre formée, si elle a besoin d'oxygène pour vivre, n'a pu en absorber, au maximum, que le volume qui s'en était dissous à l'origine dans le liquide sucré, quand celui-ci avait été exposé à l'air avant d'être introduit dans le ballon.

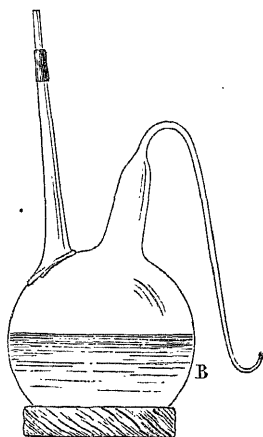
Fig. 59.

Des expériences précises, faites dans mon laboratoire par M. J. Raulin, établissent que les moûts sucrés, de même que l'eau, arrivent vite à la saturation quand on les agite vivement avec un excès d'air, qu'en outre ils dissolvent toujours un peu moins d'air que l'eau pure saturée, dans les mêmes conditions de température et de pression. Or, à la température de 25°, en adoptant le coefficient de solubilité de l'oxygène dans l'eau des Tables de Bunsen, on trouve que 1^{lit} d'eau saturée d'air renferme $5^{cc},5$ d'oxygène. Les 3^{lit} d'eau de levûre sucrée du ballon, en les supposant saturés, contenaient donc moins de $16^{cc},5$ d'oxygène, soit, en poids, moins de 23^{mg}. C'est la quantité maximum de gaz oxygène, en supposant qu'elle ait

été tout entière absorbée, qui a été utilisée par la levûre formée dans la fermentation de 150^{gr} de sucre, pour les conditions de notre expérience. Nous comprendrons mieux plus tard la signification de ce résultat.

Reprenons l'expérience qui précède, mais dans les conditions suivantes : après avoir rempli notre ballon d'eau de levûre sucrée, faisons bouillir le liquide, afin d'en chasser tout l'air qu'il renferme. A cet effet, on dispose l'expérience comme l'indique la *fig.* 60 ci-jointe. On place le ballon A sur un trépied au-

Fig. 60.

dessus d'une flamme de gaz et l'on substitue au vase à mercure une capsule de porcelaine, établie elle-même sur un bec de gaz et contenant du liquide sucré fermentescible, pareil à celui qui remplit le ballon. On fait bouillir simultanément le liquide dans le ballon et le liquide dans la capsule, puis on laisse refroidir l'ensemble, de telle sorte que, pendant le refroidissement du liquide du ballon, il rentre du liquide de la capsule. Dans une expérience faite *à blanc*, et en déterminant par la précieuse méthode de M. Schützenberger, à l'aide de l'hydrosulfite de

soude, la quantité d'oxygène qui reste dissoute dans le liquide après qu'il a été refroidi, on trouve que les 3^{lit} de liquide du ballon ainsi préparé contiennent moins de 1^{mg} d'oxygène. En même temps on dispose l'expérience comparative (*fig.* 61). C'est un ballon B plus grand que le précédent, que remplit

Fig. 61.

à moitié seulement un liquide sucré identique et de volume égal à celui du ballon A, privé de germes d'altération par l'ébullition. Dans l'entonnoir qui surmonte le ballon A, on met, en fermentation pure, quelques centimètres cubes de liquide sucré, et lorsque ce peu de liquide est en pleine fermentation, que la levûre y est jeune et active, on tourne le robinet qu'on referme aussitôt, pendant qu'il reste encore un peu de liquide et de levûre dans l'entonnoir. Cette manipulation met en levain le liquide du ballon A. On met ensuite également en levain le liquide du ballon B, avec une prise faite dans l'entonnoir de A. On remplace alors la capsule où plonge l'extrémité du tube recourbé abducteur de A, par un vase plein de mercure.

Voici le détail de deux de ces fermentations comparées et les résultats qu'elles ont fournis.

Le liquide fermentescible était de l'eau de levûre sucrée à 5 pour 100 de sucre candi; la levûre de l'espèce *saccharomyces pastorianus*.

L'ensemencement a été fait le 20 janvier et les ballons placés dans une étuve à 25°.

Ballon A, *sans air.*

Le 21 janvier fermentation commencée; un peu de liquide mousseux est sorti du tube abducteur et recouvre le mercure.

Les jours suivants, fermentation active. En observant la levûre mêlée à la mousse qui sort sous le mercure avec le gaz carbonique, on la trouve très-belle, jeune et bourgeonnante.

Le 3 février, toujours fermentation continue, s'accusant par une foule de petites bulles qui s'élèvent du fond du liquide devenu limpide. La levûre est au fond bien déposée.

Le 7 février, toujours fermentation, mais très-faible.

Le 9 février, toujours fermentation très-faible, s'accusant par de petites bulles qui s'élèvent du fond du ballon.

Ballon B, *avec air.*

Le 21, développement notable de levûre.

Les jours suivants, fermentation active avec mousse abondante à la surface du liquide.

Le 30 janvier, plus trace de fermentation.

Comme la fermentation durerait longtemps encore dans A, tant elle est faible, et qu'elle est achevée dans B depuis plusieurs jours, le 9 février, je mets fin aux deux expériences. A cet effet on décante les liquides de A et de B et l'on recueille les levûres sur des filtres tarés. La filtration a été facile, plus facile pour la levûre de A. Un examen microscopique des levûres, fait immédiatement après la décantation, prouve que les levûres sont restées très-pures, l'une et l'autre. La levûre de A est en petits paquets où les globules se tiennent et ces globules, à contours accusés, paraissent prêts pour un rajeunissement facile au contact de l'air.

Ainsi qu'on devait s'y attendre, le liquide du ballon B ne

contient plus trace de sucre; celui du ballon A en contient encore (ce que la fermentation non complétement achevée annonçait), mais seulement $4^{gr},6$. Chaque ballon contenant à l'origine 3^{lit} de liquide à 5 pour 100 de sucre il en résulte que dans le ballon B il a fermenté 150 grammes, et dans le ballon A $145^{gr},4$ de sucre. Enfin les poids de levûre ont été, après dessiccation à 100°, de

	gr
Pour le ballon à air B.........	1,970
Pour le ballon sans air A......	1,368

Les rapports sont : 1 de levûre pour 76 de sucre fermenté dans le premier cas, et 1 de levûre pour 89 de sucre fermenté dans le second.

Voici les conséquences que l'on peut déduire de ces faits :

1° Le liquide fermentescible (ballon B) qui contenait nécessairement de l'air en dissolution, puisqu'il était au contact de l'air (quoique pas à saturation sans doute, parce qu'on l'avait fait bouillir pour le purger de tout germe étranger), a fourni un poids de levûre sensiblement plus grand que celui qui ne contenait pas d'air du tout (ballon A), ou du moins qui n'en pouvait renfermer que des quantités infiniment petites.

2° Le liquide fermentescible un peu aéré a fermenté beaucoup plus rapidement que l'autre. En huit ou dix jours il ne contenait plus de sucre, tandis que l'autre, après vingt jours, en renfermait encore une quantité appréciable.

Faut-il expliquer ce dernier fait par la plus grande quantité de levûre formée dans B que dans A? Nullement; au début, quand l'air a accès, il se fait beaucoup de levûre et peu de sucre disparaît: nous le prouverons tout à l'heure; mais la levûre formée au contact de l'air est plus active que l'autre. La fermentation est corrélative tout à la fois du développement des globules et de la vie continuée de ces globules une fois formés. Plus ces derniers globules ont eu d'oxygène à leur disposition pendant leur formation, plus ils sont jeunes, translucides, turgescents et, par cela même, actifs pour décomposer le sucre. Nous reviendrons également sur ces faits.

3° Dans le ballon sans air, le rapport de la levûre au sucre est $\frac{1}{89}$ et il n'est que de $\frac{1}{76}$ dans le ballon avec air à l'origine.

Le rapport du poids de la levûre formée au poids du sucre est donc variable, et cette variation est liée à la présence de l'air, à la possibilité pour la levûre d'absorber l'oxygène; car nous prouverons incessamment que la levûre peut absorber ce gaz et dégager de l'acide carbonique comme les moisissures vulgaires, que même l'oxygène peut être compté au nombre des aliments les plus assimilables pour cette plante et que cette fixation d'oxygène sur la levûre, ainsi que les combustions qui en résultent, ont l'effet le plus marqué sur la vie de la levûre, sur la multiplication de ses cellules et sur leur activité comme ferment, soit immédiatement, soit quand on les fait agir ensuite sur le sucre à l'abri de l'oxygène de l'air.

Dans l'expérience qui précède faite sans la présence de l'air, il est une circonstance très-digne de remarque. Elle ne réussit, c'est-à-dire que la levûre semée dans le milieu privé d'oxygène ne se développe, qu'autant que cette levûre est dans un état de grande jeunesse. Que signifie cette dernière expression? Je me suis déjà expliqué sur ce point. J'entends traduire par là un fait d'observation palpable. On ensemence un liquide fermentescible; la levûre se développe, et la fermentation se manifeste. Celle-ci dure plusieurs jours, après quoi elle s'arrête. Or je suppose qu'à partir du jour où la fermentation s'est accusée par la production d'un peu de mousse qui, peu à peu, fait blanchir la surface du liquide, on prélève, toutes les vingt-quatre heures ou à plus longs intervalles, une trace de levûre déposée au fond du vase, pour la faire servir de semence à de nouvelles fermentations toutes placées dans les mêmes conditions de température, de nature et de volume de liquide, et cela pendant un temps prolongé, même après que la fermentation mère sera achevée. Il est facile de reconnaître que les premiers signes d'action dans les fermentations filles sont d'autant plus retardés que le jour de prise de la semence est plus éloigné du début de la fermentation mère. En d'autres termes, le temps nécessaire à la germination de la semence et à la production du poids de

levûre, qui provoque les premières manifestations de la fermentation, varie avec l'état de la semence, et est d'autant plus long que les globules de cette semence sont plus éloignés de l'époque de leur formation. Il faut autant que possible, dans ces expériences, que les prises successives de levûre soient d'égal poids ou volume, parce que les fermentations se déclarent d'autant plus vite, toutes choses égales, qu'on emploie une plus grande quantité de levûre pour semence.

Compare-t-on au microscope l'état des prises successives de la levûre, on reconnaît facilement que les cellules changent progressivement de structure. La première prise, faite tout au début de la fermentation mère, montre des cellules en général un peu plus volumineuses qu'elles ne seront plus tard, d'une tendreté remarquable. Leurs enveloppes sont d'une minceur extrême, leur protoplasma d'une consistance et d'une mollesse voisines de la fluidité, les granulations sous forme de points à peine visibles. Bientôt les contours des cellules deviennent plus fermes, preuve d'un épaississement de leurs enveloppes; leur protoplasma s'épaissit également, les granulations s'accusent. Les cellules d'un même organe, chez l'enfant et chez le vieillard, ne doivent pas différer plus que les cellules dont nous parlons, prises dans leurs états extrêmes. Ces changements progressifs dans les cellules, après qu'elles ont acquis leur forme et leur volume, démontrent bien l'existence d'un travail chimique d'une intensité remarquable, pendant lequel leur poids s'accroît, quoique leur volume ne change pas sensiblement, fait que j'ai appelé souvent : « la vie continuée des globules déjà formés ». C'est ce qu'on pourrait qualifier de travail d'avancement en âge des cellules, à peu près comme on voit les êtres adultes continuer de vivre longtemps, même après qu'ils sont devenus impuissants à se reproduire et que leur volume ne change plus.

Cela posé, on constate, je le répète, que, pour se multiplier dans un milieu fermentescible, hors de toute présence du gaz oxygène, les cellules de levûre doivent être extrêmement jeunes, pleines de vie et de santé, encore sous l'influence de l'activité vitale qu'elles doivent à l'oxygène libre qui a servi à

les former, et que peut-être elles ont emmagasiné pour un temps. Plus vieilles, elles ont beaucoup de peine à se reproduire sans air et elles vieillissent de plus en plus; si elles se multiplient, c'est sous une forme bizarre et monstrueuse. Plus vieilles encore, elles restent absolument inertes dans un milieu dépourvu d'oxygène libre. Ce n'est pas qu'elles soient mortes; en général, elles peuvent se rajeunir merveilleusement bien dans ce même liquide, si on les y sème après l'avoir aéré. Je ne serais pas surpris que, dans l'imagination d'un lecteur attentif, surgissent en ce moment certaines vues préconçues au sujet des causes et de l'explication de ces grands mystères de la vie des êtres, que notre ignorance cache sous les expressions de jeunesse et de vieillesse; mais je n'ose m'y arrêter.

Faisons tout de suite observer, car c'est de grande importance, que, dans les fermentations industrielles, il y a toujours un moment où les levûres sont dans cet état d'excessive jeunesse dont nous parlons, acquise sous l'influence du gaz oxygène libre, parce que tous les moûts et toutes les levûres de l'industrie sont maniés forcément au contact de l'air, et que de l'oxygène les accompagne. La levûre s'empare aussitôt de ce gaz et se constitue dans l'état de jeunesse et d'activité, qui lui permet de vivre ensuite hors du contact de l'air et d'agir comme ferment. Aussi, dans ces fermentations industrielles, on voit la levûre déjà formée en abondance avant même qu'apparaissent les premiers signes extérieurs de la fermentation. Dans cette première phase la levûre vit surtout comme moisissure.

Ces observations permettent de comprendre également que les fermentations industrielles peuvent, à la rigueur, durer indéfiniment par l'arrivée incessante de nouveau moût : outre que l'air extérieur s'introduit toujours plus ou moins pendant le travail, celui que les moûts nouveaux contiennent entretient l'activité vitale de la levûre, comme la respiration entretient la jeunesse et la vie des cellules dans l'économie. Si l'air ne se renouvelle d'aucune façon, l'activité vitale que les cellules ont reçue à l'origine, sous son influence, s'épuise de plus en plus, et la fermentation peut même s'éteindre.

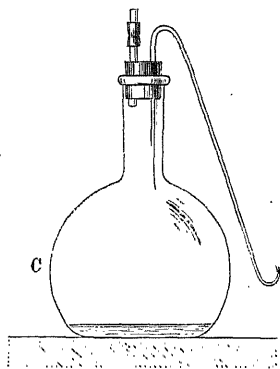
Je rapporterai un des résultats fournis par une semence de levûre plus vieille que celle qui avait été employée pour l'expérience du ballon A (*fig.* 234, page 60) et en exagérant, en outre, les précautions pour la privation de l'air. A cet effet, au lieu de laisser refroidir lentement le ballon, ainsi que la capsule, après les avoir purgés d'air par l'ébullition, on a continué cette ébullition dans la capsule pendant le temps qu'on refroidissait artificiellement le ballon ; puis l'extrémité du tube abducteur du ballon sortant de la capsule encore bouillante a été plongée dans le mercure. Quant à la mise en levain, au lieu d'introduire le liquide du petit entonnoir cylindrique lorsqu'il était en fermentation, on a attendu que celle-ci fût achevée. Or, dans ces conditions, après trois mois d'attente, la fermentation durait encore. On y mit fin, et l'on trouva qu'il s'était formé $0^{gr},255$ de levûre et qu'il avait fermenté 45^{gr} de sucre, soit le rapport $\frac{0,255}{45} = \frac{1}{176}$ entre les poids de levûre et de sucre. La levûre, dans cette expérience, s'était développée si péniblement, à cause des conditions de son origine, qu'elle était de toute taille. Il y avait de grosses et longues cellules tubuliformes, les unes d'aspect très-vieux, très-granuleux, les autres plus translucides. Toutes pouvaient passer pour des cellules monstres.

Le succès de ce genre d'expériences est encore aux prises avec une autre difficulté. Si peu que soit impure la levûre que l'on sème dans le liquide fermentescible non aéré, surtout quand ce liquide est de l'eau de levûre sucrée, on peut être assuré que la fermentation alcoolique s'arrêtera promptement, si même elle se déclare, et qu'elle sera associée à des fermentations accessoires. Les vibrions de la fermentation butyrique, par exemple, se multiplient dans cette circonstance avec la plus grande facilité; aussi la pureté de la levûre au moment de la mise en levain et la pureté du liquide de l'entonnoir cylindrique qui termine la tubulure à robinet sont des conditions indispensables de réussite. Pour remplir sûrement la seconde, on surmonte l'entonnoir, comme l'indique la *fig.* 60

(page 234), d'un bouchon percé de deux trous, l'un traversé par un tube court, fermé par un caoutchouc et un bouchon de verre, l'autre par un tube effilé et recourbé. L'entonnoir peut alors fonctionner à la manière de nos ballons à deux tubulures. On y place quelques centimètres cubes d'eau de levûre sucrée, qu'on fait bouillir, afin que la vapeur détruise les germes à la surface des parois, etc.; puis, après le refroidissement, on ensemence le liquide par une trace de levûre pure introduite par le petit tube à bouchon de verre. Si ces précautions ne sont pas prises, il est presque impossible de réussir la fermentation du ballon, parce que la levûre semée est tout de suite gênée par un développement de vibrions anaérobies. Pour plus de sûreté, on pourrait ajouter, en outre, au liquide fermentescible, au moment de sa préparation, une très-petite quantité d'acide tartrique qui nuit à la naissance des vibrions butyriques.

La variabilité du rapport entre les poids de levûre et de sucre qu'elle décompose mérite au plus haut point d'attirer notre attention. Parallèlement aux expériences dans le détail desquelles je viens d'entrer, j'en ai fait une troisième à l'aide de la fiole C (*fig.* 62), de la capacité de $4^{\text{lit}},7$, disposée

Fig. 62.

C

à la façon de nos ballons à deux cols, afin de pouvoir priver de germes étrangers le liquide fermentescible par une ébulli-

tion préalable et l'ensemencer dans des conditions de pureté. Le volume d'eau de levûre à 5 pour 100 de sucre était de 200^{cc} seulement, et formait par conséquent, vu la capacité de la fiole, une couche très-étalée sur le fond. Le lendemain de l'ensemencement, le dépôt de levûre est déjà considérable et quarante-huit heures après la fermentation est achevée. Le troisième jour, on recueille la levûre après avoir analysé le gaz contenu dans la fiole, ce qui fut facile en plaçant celle-ci dans un bain d'eau chaude pendant que l'extrémité du tube sinueux recourbé plongeait sous une cloche pleine de mercure. Le gaz contenait 41,4 pour 100 d'acide carbonique et, après l'absorption, l'air restant renfermait

Oxygène	19,7
Azote	80,3
	100,0

En tenant compte du volume de la fiole, c'est un minimum de 50^{cc} d'oxygène qui ont été absorbés par la levûre.

Le liquide ne renfermait plus de sucre et le poids de la levûre, séchée à 100°, était de 0^{gr} 44. Quant au rapport du poids de la levûre au sucre, il est de $\frac{0,44}{10} = \frac{1}{22,7}$.

Cette fois, où nous avons accru la quantité d'oxygène dissous et pouvant être assimilé à l'origine et pendant les premiers développements de la levûre, nous passons du rapport $\frac{1}{76}$, trouvé page 237, au rapport $\frac{1}{23}$.

Forçons encore la proportion d'oxygène en rendant la diffusion des gaz plus facile que dans une fiole dont l'air est très-calme, circonstance défavorable, parce que les premières portions de gaz carbonique forment promptement une couche tranquille à la surface du liquide qui éloigne le gaz oxygène. A cet effet, j'ai employé des cuvettes plates, ayant une glace pour fond et des rebords peu élevés, également en verre. La couche liquide n'avait que quelques millimètres de hau-

teur (*fig.* 63). Voici une des expériences. Le 16 avril 1860, je

Fig. 63.

sème une trace de levûre de bière (levûre haute) dans 200^{cc} d'un liquide sucré, contenant $1^{gr},720$ de sucre candi. Dès le 18 avril, la levûre est très-belle et très-développée. On la recueille après avoir ajouté au liquide quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, afin de ralentir beaucoup la fermentation et rendre la filtration plus facile. Le sucre restant dans le liquide filtré, dosé par la liqueur de Fehling, prouve qu'il a disparu $1^{gr},04$ de sucre. Le poids de la levûre desséchée à 100^{o} est $0^{gr},127$, ce qui donne pour rapport du poids de la levûre au poids du sucre fermenté $\frac{0,127}{1,04} = \frac{1}{8,1}$, nombre beaucoup plus fort que les précédents.

On peut augmenter encore ce rapport, en l'évaluant aussi peu de temps qu'il est possible après l'ensemencement ou la mise en levain. On comprend, en effet, que la levûre, étant composée de cellules bourgeonnantes qui se détachent les unes des autres, forme promptement épaisseur au fond des vases. Or, les cellules se recouvrant sans cesse, l'oxygène de l'air qui est dissous dans le liquide est absorbé par les cellules supérieures, tandis que les cellules recouvertes en sont privées et agissent sur le sucre sans que ce gaz participe à leur vie, circonstance qui doit tendre à diminuer le rapport qui nous occupe. Recommençons donc de nouveau l'expérience précédente, en l'arrêtant aussitôt qu'on jugera que le poids de la levûre formée est appréciable à la balance, ce qui a eu lieu vingt-quatre heures après que l'ensemencement eut été effectué par une trace impondérable de levûre. Cette fois, le rapport des poids de levûre et de sucre fut de $\frac{0^{gr},024 \text{ levûre}}{0^{gr},098 \text{ sucre}} = \frac{1}{4}$. C'est le plus grand rapport que j'aie pu obtenir.

Dans ces conditions, la fermentation du sucre est des plus

faibles : c'est presque le rapport auquel donnent lieu les moisissures aérobies vulgaires; l'acide carbonique qui se dégage est formé en grande partie par les combustions qui résultent de l'assimilation du gaz oxygène de l'air. La levûre vit alors et agit à la manière des moisissures. Elle n'est plus ferment pour ainsi dire, et il est sensible qu'elle ne le serait plus du tout, si l'on pouvait entourer chaque cellule isolément de tout l'air qui lui est nécessaire. C'est le sens évident des phénomènes précédents, dont il faut d'ailleurs rapprocher ceux que nous signalerons plus loin, page 257, sur la vie de la levûre au moyen du sucre de lait.

Qu'on me permette ici une digression.

Dans l'ouvrage que M. Schützenberger a publié récemment sur les fermentations, l'auteur critique les déductions que j'ai tirées des expériences précédentes et combat l'explication que je donne des phénomènes de fermentation. Il n'est pas difficile de montrer le point faible du raisonnement de M. Schützenberger. Je définis le pouvoir du ferment par le rapport du poids du sucre décomposé au poids du ferment produit. M. Schützenberger prétend que je fais ainsi «une hypothèse discutable», et il juge plus naturel, dit-il, d'évaluer ce pouvoir, qu'il appelle *énergie du ferment*, par la quantité de sucre décomposé par l'unité de poids de la levûre, *dans l'unité de temps ;* et, comme il résulte de mes expériences que la levûre a une très-grande activité quand elle trouve l'oxygène à sa disposition, et qu'elle peut décomposer, dans ce cas, beaucoup de sucre en peu de temps, M. Schützenberger conclut qu'elle a un grand pouvoir comme ferment, bien plus grand que quand elle agit à l'abri de l'air, circonstance dans laquelle elle décompose le sucre très-lentement. Bref, il est disposé à tirer de mes observations une conséquence inverse de celle que j'en déduis moi-même.

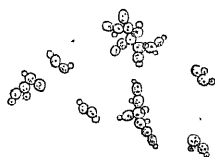
M. Schützenberger n'a pas remarqué que le pouvoir d'un ferment est indépendant du temps pendant lequel il s'exerce. Dans 1^{lit} de moût sucré, je dépose une trace de levûre. Celle-ci se multiplie et tout le sucre se décompose : que ce travail

chimique de décomposition du sucre s'accomplisse en un jour, ou un mois, ou une année, cela ne change rien à sa valeur, pas plus que le travail mécanique qui consisterait à élever une tonne de matériaux, depuis le sol jusqu'au sommet d'une maison, ne serait changé par le fait qu'on l'aurait effectué en douze heures au lieu d'une heure. La notion du temps n'entre pas dans la définition du travail. M. Schützenberger ne s'est pas aperçu qu'en introduisant la considération du temps dans la définition du pouvoir d'un ferment, il y introduisait par là même celle de l'activité vitale des cellules qui est indépendante du caractère ferment. En dehors de la considération du rapport qui existe entre le poids de la subtance fermentescible décomposée et le poids du ferment produit, il n'y a pas lieu de parler de fermentations ni de ferments. C'est parce que, dans certaines actions chimiques, ce rapport s'est trouvé exagéré qu'on a distingué des phénomènes de fermentation et des ferments ; mais le temps pendant lequel ces phénomènes s'accomplissent n'a rien à faire, soit avec leur existence propre, soit avec leur puissance. Les cellules d'une levûre peuvent mettre huit jours à se rajeunir et à se multiplier comme elles peuvent mettre quelques heures seulement. Si l'on introduit la notion de temps pour caractériser leur pouvoir de décomposition, on pourra être conduit à dire que, dans le premier cas, ce pouvoir est nul, et considérable dans le second. Pourtant c'est du même être, du même ferment qu'il s'agit.

M. Schützenberger s'étonne que la fermentation puisse avoir lieu en présence de l'oxygène, si, comme je le pense, la décomposition du sucre est la conséquence de la nutrition de la levûre, aux dépens d'une combinaison oxygénée suppléant l'oxygène libre. Tout au moins, dit-il, en présence de l'oxygène, la fermentation devrait être « *ralentie* ». Pourquoi serait-elle ralentie, puisque j'ai prouvé qu'en présence de l'oxygène l'activité vitale des cellules est accrue ? Elle ne doit pas être *ralentie* comme rapidité d'action. Elle doit être *affaiblie, diminuée* comme puissance, et c'est précisément ce qui arrive. L'oxygène libre donne à la levûre une grande activité vitale ;

mais, à ce moment même, son pouvoir tend vers zéro, parce qu'elle approche de l'état où elle pourra vivre comme une moisissure, c'est-à-dire de cet état où le rapport du poids du sucre décomposé au poids de l'organisme produit sera du même ordre que chez les êtres qui ne sont pas ferments.

En résumé et sous une forme un peu différente, on peut conclure en toute rigueur, de l'ensemble des faits que j'ai observés, que la levûre qui vit en présence de l'oxygène, qui peut en assimiler autant que cela est nécessaire à sa complète nutrition, cesse d'être ferment d'une manière absolue. Toutefois, la levûre formée dans ces conditions, mise en présence du sucre, *à l'abri de l'air*, en décomposerait plus, *dans un temps donné*, qu'à un autre quelconque de ses états. C'est que la levûre qui a été formée à l'air, avec le maximum du gaz oxygène libre qu'elle peut assimiler, a plus de jeunesse ou d'activité vitale que si elle a été formée sans air ou avec insuffisance d'air. M. Schützenberger veut introduire cette activité par la notion de temps, dans la mesure du pouvoir du ferment; mais il oublie de remarquer que la levûre ne peut manifester ce maximum d'énergie qu'à la condition d'un changement radical dans son mode de vie, à la condition de n'avoir plus d'air à sa disposition, à la condition qu'elle ne respirera plus d'oxygène libre. En d'autres termes, le pouvoir respiratoire devenant nul, le pouvoir comme ferment est maximum. M. Schützenberger affirme précisément le contraire [page 151 de son ouvrage (Paris, 1875)] et se met ainsi gratuitement en désaccord avec les faits.

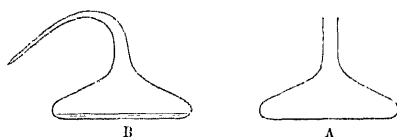
Fig. 64.

La végétation de la levûre en présence de beaucoup d'air a une activité extraordinaire. On peut en juger déjà par le

poids relativement considérable qui s'en forme dans l'intervalle de quelques heures. Le microscrope accuse mieux encore cette activité par l'énergie du bourgeonnement, par l'air de jeunesse de tous les globules. La *fig.* 64 représente la levûre de la dernière expérience au moment où l'on y a mis fin. Rien n'est donné à l'imagination (1). Tous les groupes ont été dessinés d'après nature.

Il n'est pas sans intérêt de rappeler que les résultats qui précèdent ont été promptement mis à profit par l'industrie. Dans les distilleries bien dirigées, on a pris l'habitude d'aérer les moûts et les jus pour les mieux préparer à la fermentation. On laisse couler les mélasses étendues d'eau en minces filets au moment de l'addition de la levûre. Des usines se sont élevées, où la fabrication de la levûre est l'objet principal. Les moûts sucrés, mêlés au levain, sont abandonnés au contact de l'air, dans des cuves peu profondes, en grande surface et réalisent sur une immense échelle les conditions de mes expériences de 1861, ci-dessus décrites, sur la rapide et facile multiplication de la levûre au contact de l'air.

Essayons maintenant de déterminer le volume d'oxygène absorbé par un poids connu de levûre dans le cas où la levûre vit au contact de l'air, et en choisissant des conditions où l'absorption de l'air est relativement facile et abondante.

A cet effet, on a répété l'expérience de la fiole à large fond de la page 242, avec un vase de la forme *fig.* B qui n'est

Fig. 65.

autre que le vase *fig.* A, dont le goulot fut étiré et fermé à

(1) Cette figure est au grossissement de 300 diamètres, tandis que les grossissements de presque toutes les figures de cet ouvrage sont au grossissement de 400.

la lampe après qu'on y eut introduit une couche mince d'un jus sucré ensemencé avec une trace de levûre pure.

Voici les données et les résultats d'une expérience : On a employé 60^{cc} d'eau de levûre sucrée à 2 pour 100 avec trace de levûre. Après quinze heures d'exposition à l'étuve à 25°, on a engagé la pointe effilée sous une cloche pleine de mercure et brisé cette pointe. Une portion du gaz s'est échappée et a été recueillie sous la cloche.

Pour 25^{cc} de ce gaz on a eu, après l'absorption par la potasse, 20,6 et après l'absorption par l'acide pyrogallique, 17,3. En tenant compte du volume resté libre de la fiole qui était de 315^{cc}, il en résulte une absorption de 14^{cc},5 de gaz oxygène. Quant au poids de levûre, à l'état sec, il a été de 0^{gr},035.

En conséquence, pour la production de 35^{mg} de levûre, on a une absorption de 14 à 15^{cc} d'oxygène, en supposant même que la levûre se soit formée tout entière sous l'influence de ce gaz : cela n'équivaut pas à moins de 414^{cc} pour 1^{gr} de levûre (1). Tel est le volume considérable de gaz oxygène qui serait nécessaire, au minimum, pour suffire à la vie de 1^{gr} de levûre, lorsqu'elle peut assimiler ce gaz librement comme ferait une moisissure ordinaire.

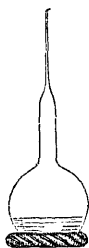
Reportons-nous maintenant à la première expérience de ce paragraphe, page 232, où un ballon de 3^{lit} rempli de liquide fermentescible a été mis en fermentation et a fourni 2^{gr},25 de levûre sans pouvoir utiliser un volume d'oxygène supérieur à 16^{cc},5. D'après ce que nous venons de dire, si ces 2^{gr},25 de levûre n'avaient pu vivre qu'avec de l'oxygène, en d'autres termes, si leurs cellules n'avaient pu se multiplier qu'en absorbant de l'oxygène libre, l'absorption n'eût pas été moindre que

---

(1) Ce nombre est probablement trop faible; car il n'est pas possible que la levûre, même dans les conditions exceptionnelles où nous nous sommes placés, n'ait pas augmenté de poids, pour une partie du moins, en vivant sans air, parce que les cellules se recouvrent les unes les autres. Le poids de levûre a deux origines, quoi qu'on fasse, celle de la vie avec air et celle de la vie sans air. On pourrait essayer de diminuer encore la durée de l'expérience, et l'on rapprocherait davantage la vie de la levûre de la vie des moisissures vulgaires.

$2^{gr},25 \times 414^{cc}$, soit $931^{cc},5$. La plus grande partie des $2^{gr},25$ se sont donc évidemment multipliés à l'état de plante anaérobie.

Les moisissures ordinaires exigent aussi des quantités d'oxygène considérables pour leur développement, ce dont il est facile de s'assurer en faisant pousser une moisissure dans un vase clos rempli d'air, pesant ensuite le poids de plante formée et mesurant le volume de gaz oxygène absorbé. A cet effet, on prend un ballon de la forme ci-jointe (*fig.* 66), d'une capacité

Fig. 66.

de 300^{cc} environ, contenant un liquide propre à la vie des moisissures. On le fait bouillir, on ferme la pointe effilée après que la vapeur a chassé tout ou partie de l'air ; puis on l'ouvre dans un jardin ou dans un appartement. Si une spore de moisissure pénètre, et cela arrive toujours pour un certain nombre de ballons, à moins de circonstances particulières, elle s'y développe et absorbe peu à peu tout l'oxygène de l'air du ballon. Mesurant le volume de cet air, ce qui est facile, et pesant à l'état sec le poids de la plante formée, on sait ce qu'un poids déterminé d'un *mycelium* de moisissure ou d'un *mycelium* avec appareil de fructification absorbe de gaz oxygène libre. Dans un essai de cette nature, où la plante a été pesée une année après son développement, j'ai trouvé pour $0^{gr},008$ de *mycelium*, desséché à 100 degrés, une absorption qui ne s'élevait pas à moins de 43^{cc} de gaz oxygène à 25 degrés. Ces nombres varient, du reste, sensiblement avec la nature des moisissures et aussi avec l'activité plus ou moins grande de leur dévelop-

pement, parce qu'il y a complication de combustions accessoires de l'ordre de celles que nous offrent les *mycoderma aceti* et *vini*, et c'est sans doute à cette cause qu'il faut attribuer l'absorption considérable d'oxygène de cette dernière expérience (1).

Les déductions de l'ensemble des faits qui précèdent ne sauraient être douteuses pour personne. Quant à moi, je ne puis m'empêcher d'y voir le fondement de la véritable théorie de la fermentation. Dans les expériences que je viens d'exposer, la fermentation par la levûre, c'est-à-dire par le type des ferments proprement dits, s'est présentée à nous comme la conséquence directe d'un travail de nutrition, d'assimilation, de vie, en un mot, effectuée sans gaz oxygène libre. La chaleur consommée par ce travail a dû être nécessairement empruntée à la décomposition de la matière fermentescible, c'est-à-dire au corps sucré qui, à la manière des corps explosifs, dégage de la chaleur par sa décomposition. La fermentation par la levûre semble donc liée essentiellement à la propriété que possède cette petite plante cellulaire de respirer, en quelque sorte, avec l'oxygène combiné au sucre. Sa puissance fermentescible (puissance qu'il ne faut pas confondre avec l'activité fermentescible ou l'intensité de la décomposition dans un temps

---

(1) Dans ces essais où des moisissures restent longtemps en contact avec un moût sucré, hors du contact de l'oxygène (car l'oxygène est absorbé promptement par la vie de la plante, comme on peut le voir par la note de la page 54 de mon *Mémoire sur les générations dites spontanées*), il se forme de l'alcool en quantité sensible, sans doute, parce que la plante ne perd pas tout de suite son activité vitale, après l'absorption de l'oxygène.

Un ballon de 300^{cc} de capacité, contenant 100^{cc} de moût de raisin, est ouvert après qu'on y a fait le vide par l'ébullition et aussitôt refermé le 15 août 1873. Une moisissure, vert glauque unique, très-étalée, s'y est formée par ensemencement spontané et a décoloré le liquide qui était jaune brun à l'origine. Des cristaux volumineux, brillant comme des diamants, de tartrate neutre de chaux, se sont déposés. Au bout d'une année et longtemps après que la plante fut morte, on a étudié le liquide. Il renfermait 0^{gr},3 d'alcool et 0^{gr},053 de poids de plante séchée à 100°. On a constaté que les spores de la moisissure, au moment de l'ouverture du ballon, étaient mortes. Semées, elles ne se sont pas développées du tout.

donné) varie considérablement entre deux limites fixées par la plus grande et la plus petite participation possible du gaz oxygène libre aux actes de nutrition de la plante. Fournit-on à celle-ci une quantité d'oxygène libre aussi grande que l'exigent sa vie, sa nutrition, les combustions respiratoires, en d'autres termes, la fait-on vivre à la manière de toutes les moisissures proprement dites, elle cesse d'être ferment, c'est-à-dire que le rapport du poids de la plante au poids du sucre qui est son principal aliment carboné est du même ordre que pour les moisissures (1). Au contraire, vient-on à supprimer pour la levûre toute influence de l'air, la fait-on développer dans un milieu sucré privé de gaz oxygène libre, elle s'y multiplie encore comme si l'air était présent, quoique moins activement, et c'est alors que son caractère ferment est le plus exalté ; c'est alors que le plus grand écart existe, toutes choses égales, entre le poids de levûre formée et le poids de sucre décomposé. Enfin, si le gaz oxygène libre intervient, en quantités variables, on peut faire passer la puissance fermentescible de la levûre par tous les degrés compris entre les deux limites extrêmes que nous venons d'indiquer. On ne saurait mieux établir, ce me semble, que la fermentation est dans un rapport direct avec la vie, quand elle s'accomplit sans gaz oxygène libre ou avec des quantités de ce gaz insuffisantes pour tous les actes de la nutrition et de l'assimilation.

Et quelle autre preuve plus manifeste également de cette théorie, que le fait exposé au Chapitre IV, à savoir que des moisissures vulgaires prennent le caractère ferment quand on les fait vivre sans air ou avec des quantités d'air trop petites

---

(1) Je trouve dans le Mémoire cité de M. Raulin : « *que le rapport minimum du poids du sucre au poids de matière organisée, poids de moisissure, qu'il contribue à former est exprimé par* $\frac{10}{3,2} = 3,1$ ». JULES RAULIN, *Études chimiques sur la végétation. Recherches sur le développement d'une mucédinée dans un milieu artificiel*, page 192, Paris, 1870. Or, on a vu que pour la levûre nous avons pu descendre au rapport $\frac{4}{1}$.

pour que leurs organes en soient entourés autant qu'il est nécessaire à leur vie de plantes aérobies. Les ferments n'ont donc qu'à un degré plus élevé un caractère propre à beaucoup de moisissures vulgaires, sinon à toutes, et que possèdent même probablement, plus ou moins, toutes les cellules vivantes, à savoir, d'être tout à la fois aérobies ou anaérobies suivant les conditions où on les place.

On comprend sans peine que, sous leur état de plantes aérobies, les levûres alcooliques n'aient jamais attiré l'attention. Elles ne sont cultivées qu'à l'abri de l'air, dans les profondeurs de liquides promptement saturés de gaz acide carbonique. L'air n'intervient que pour les premiers développements de leurs germes et à l'insu de l'opérateur. Sous leur état de plantes anaérobies, leur vie et leur action ont une longue durée. Nous devons recourir à des dispositifs d'expérience particuliers pour mettre en évidence la vie des levûres alcooliques sous l'influence du gaz oxygène libre, tandis que leur existence à l'abri de l'air dans les profondeurs des liquides s'imposent à l'attention. Les conséquences en sont, en outre, merveilleuses par les produits qui en résultent, par les industries si importantes dont elles sont la raison d'être. Pour les moisissures vulgaires, c'est l'inverse. S'il faut des dispositions spéciales d'expérimentation, c'est pour reconnaître qu'elles peuvent séjourner et vivre momentanément hors du contact de l'air, tandis que nous sommes frappés de leur facile développement sous l'influence de ce gaz. Aussi la décomposition des liquides sucrés qui est la conséquence de leur vie sans air est à peine sensible, partant sans utilité pratique. Leur vie aérienne, au contraire, avec respiration et combustion dues au gaz oxygène libre, est facile et prolongée. Elle frappe les moins clairvoyants. Un jour viendra cependant, j'en suis persuadé, où les moisissures interviendront dans certaines opérations de l'industrie par leurs propriétés de destruction de la matière organique. La conversion de l'alcool en vinaigre pendant l'acétification et la production de l'acide gallique par les moisissures de la noix de galle humectée se rattachent déjà à ce genre de phé-

nomènes (1). On peut consulter sur ce dernier sujet l'important travail de M. Van Tieghem, inséré au tome VI des *Annales scientifiques de l'École Normale.*

La possibilité de vivre sans gaz oxygène s'accompagne chez les diverses moisissures de modifications morphologiques d'autant plus profondes que cette faculté est elle-même plus développée. Ces changements dans les formes végétatives sont presque insensibles dans le *penicillium* et dans le *mycoderma vini*, mais ils s'accusent dans l'*aspergillus* par une tendance non douteuse à l'augmentation en diamètre des tubes submergés du *mycelium*, par le cloisonnement rapproché de ces mêmes tubes, ce qui simule parfois des chaînes de conidies; ils sont très-marqués dans le *mucor* dont les tubes renflés et cloisonnés à petits intervalles montrent des chaînes de cellules tombantes et bourgeonnantes, d'où résulte peu à peu un amas de cellules. Si l'on y réfléchit bien, la levûre offre ces mêmes caractères. Quoi de plus semblable, à tout prendre, au *mucor* des *Pl. V* et *VI* que le *saccharomyces* des *fig.* 33 et 37? Ne voyons-nous pas de part et d'autre des chaînes rameuses de longues cellules ou articles plus ou moins étranglés et aux entre-nœuds des articles plus courts ou des cellules qui se détachent et vont bourgeonner dans le liquide pour leur propre compte? En outre, moins il y a d'oxygène présent, plus est marquée la tendance à la formation de cellules bourgeonnantes qui s'isolent et se disjoignent promptement.

Qui pourrait croire, en voyant au microscope la levûre du

---

(1) Je montrerai un jour que les combustions dues aux moisissures provoquent dans certaines putréfactions des dégagements considérables d'ammoniaque, et qu'en réglant leur action on pourrait les faire servir à retirer, sous cette forme, l'azote d'une foule de débris organiques, comme aussi, en empêchant la production de ces petites plantes, on pourrait accroître beaucoup la proportion des nitrates dans les nitrières artificielles.

En entretenant humides des morceaux de pain dans un courant d'air et cultivant à sa surface diverses sortes de moisissures, j'ai pu faire dégager des torrents d'ammoniaque à la suite de la combustion par ces mêmes moisissures des matières hydrocarbonées. La putréfaction des asperges et celle de beaucoup d'autres substances animales ou végétales m'ont donné des résultats analogues.

mucor de la *Pl. VI*, qu'elle a pour premier germe ce *mucor* vulgaire qu'on trouve partout avec ses filaments si ténus, droits où ramifiés suivant les variétés et qui se dressent terminés par de petites têtes rondes recouvertes de spores. C'est ainsi que dans la levûre de la *Pl. XI* on ne saurait reconnaître les tubes rameux des *fig.* 33 et 37.

C'est une grande présomption en faveur de la vérité des idées théoriques quand les conséquences expérimentales de celles-ci se fortifient de tous les faits nouvellement acquis à la science et s'imposent de plus en plus à l'esprit, malgré ce qu'elles avaient pu offrir d'invraisemblable au premier aperçu. Tel est bien le caractère de celles que nous venons d'exposer. Je les ai proposées en 1861 : non-seulement elles n'ont reçu du temps aucune atteinte, mais elles ont servi à prévoir des faits nouveaux et il est plus facile de les défendre aujourd'hui qu'on n'eût pu le faire il y a quinze ans. On trouve leur première expression dans diverses Notes que j'ai présentées à la Société chimique de Paris, notamment dans ses séances des 12 avril et 28 juin 1861 et dans les *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*. Il ne sera pas sans intérêt de citer ici, dans son entier, ma Communication du 28 juin 1861, intitulée : *Influence de l'oxygène sur le développement de la levûre et sur la fermentation alcoolique*, extraite du *Bulletin de la Société chimique de Paris*.

« M. Pasteur expose les résultats de ses recherches sur la fermentation du sucre et le développement des globules de levûre, suivant que cette fermentation s'opère à l'abri ou au contact du gaz oxygène libre. Ces expériences n'ont d'ailleurs rien de commun avec celles de Gay-Lussac, sur le moût de raisin écrasé à l'abri de l'air, puis amené au contact de l'oxygène.

» La levûre toute formée peut bourgeonner et se développer dans un liquide sucré et albumineux en l'absence complète d'oxygène ou d'air. Il se forme peu de levûre dans ce cas, et il disparaît comparativement une grande quantité de sucre, 60 ou 80 parties pour une de levûre formée. La fermentation est très-lente dans ces conditions.

» Si l'expérience est faite au contact de l'air et sur une grande

surface, la fermentation est rapide. Pour la même quantité de sucre disparu, il se fait beaucoup plus de levûre. L'air en contact cède de l'oxygène qui est absorbé par la levûre. Celle-ci se développe énergiquement, mais son caractère de ferment tend à disparaître dans ces conditions, On trouve en effet que, pour une partie de levûre formée, il n'y aura que 4 à 10 parties de sucre transformé. Le rôle de ferment de cette levûre subsiste néanmoins et se montre même fort exalté si l'on vient à la faire agir sur le sucre en dehors de l'influence du gaz oxygène libre.

» Il paraît dès lors naturel d'admettre que, lorsque la levûre est ferment, agissant à l'abri de l'air, elle prend de l'oxygène au sucre et que c'est là l'origine de son caractère de ferment.

» M. Pasteur explique le fait d'une activité tumultueuse à l'origine des fermentations, par l'influence de l'oxygène de l'air qui est en dissolution dans les liquides quand l'action commence. L'auteur a reconnu, en outre, que la levûre de bière semée dans un liquide albumineux, tel que l'eau de levûre de bière, se multiplie encore lorsqu'il n'y a pas trace de sucre dans la liqueur, pourvu toutefois que l'oxygène de l'air soit présent en grande quantité. A l'abri de l'air, et dans ces conditions, la levûre ne bourgeonne pas du tout. Les mêmes expériences peuvent être répétées avec un liquide albumineux mêlé à une dissolution de sucre non fermentescible, tel que le sucre de lait cristallisé ordinaire. Les résultats sont du même ordre.

» La levûre formée ainsi en l'absence du sucre n'a pas changé de nature; elle fait fermenter le sucre si on la fait agir sur ce corps à l'abri de l'air. Il faut remarquer toutefois que le développement de la levûre est très-pénible lorsqu'elle n'a pas pour aliment une matière fermentescible.

» En résumé, la levûre de bière se comporte absolument comme une plante ordinaire, et l'analogie serait complète si les plantes ordinaires avaient pour l'oxygène une affinité qui leur permît de respirer à l'aide de cet élément enlevé à des composés peu stables, auquel cas, suivant M. Pasteur, on les verrait être ferments pour ces matières.

» M. Pasteur annonce qu'il espère réaliser ce résultat, c'est-

à-dire rencontrer des conditions dans lesquelles certaines plantes inférieures vivraient à l'abri de l'air en présence du sucre, en provoquant alors la fermentation de cette substance à la manière de la levûre de bière. »

Ce résumé et les vues préconçues qu'il faisait connaître n'ont rien perdu de leur rigueur; bien au contraire, le temps les a consacrés. Les prévisions des deux derniers alinéas ont reçu d'observations récentes, dues à MM. Lechartier et Bellamy, et des miennes propres, une sanction précieuse. Je dois entrer à ce sujet dans quelques développements. Toutefois, avant d'aborder ce point curieux des fermentations, il est nécessaire que j'insiste sur un passage de la citation précédente. Il y est dit que la levûre peut se multiplier dans un liquide albumineux où se trouve un sucre non fermentescible, le sucre de lait par exemple. Voici une expérience de cette nature : Le 15 août 1875, je sème une trace de levûre dans 150^{cc} d'eau de levûre contenant $2\frac{1}{2}$ pour 100 de sucre de lait. La solution avait été préparée dans un de nos ballons à deux tubulures avec les soins ordinaires, pour qu'elle fût pure, et la levûre ensemencée était elle-même d'une pureté parfaite. Trois mois après, le 15 novembre 1875, j'ai recherché la présence de l'alcool dans le liquide; il n'y en avait pas la plus petite quantité. Quant à la levûre qui s'était développée sensiblement, elle pesait $0^{gr},050$ après avoir été recueillie et desséchée sur un filtre.

Voilà donc une circonstance où la levûre se multiplie sans donner lieu à la moindre fermentation : elle est moisissure, elle absorbe l'oxygène et dégage de l'acide carbonique, et c'est sans nul doute à la privation progressive de l'oxygène qu'il faut attribuer l'arrêt de son développement dans cette expérience. Dès que le ballon fut rempli d'acide carbonique et d'azote, la vie de la levûre n'a plus été qu'en rapport avec la quantité d'air qui rentrait dans le ballon par les variations de température. Cette levûre, tout entière développée à titre de plante moisissure, était-elle encore susceptible de manifester le caractère ferment? Afin de lever ce doute, j'avais eu soin, le 15 août 1875, de préparer un autre ballon pareil au précé-

dent, et qui s'était comporté de même. Celui-ci fut décanté le 15 novembre, et, sur le dépôt de la plante restée dans le ballon, je fis arriver du moût de bière. Or, en moins de cinq heures, à l'étuve, la plante provoqua la fermentation du moût qui fut accusée par des îlots de bulles de gaz à la surface du liquide. J'ajoute que la levûre, dans le milieu dont il vient d'être question, ne se développe pas du tout en dehors de la présence de l'air.

L'intérêt de ces résultats ne saurait échapper à personne; ils prouvent clairement que le caractère ferment n'est pas une condition de l'existence de la levûre ; ils montrent que la levûre est une plante ne différant pas des plantes ordinaires et qu'elle ne manifeste son pouvoir de ferment qu'à cause des circonstances particulières dans lesquelles on la fait vivre. Elle est ferment ou elle ne l'est pas, et, après qu'elle a vécu sans montrer le moins du monde cette propriété, elle est toute prête à l'accuser quand on la place dans des conditions convenables. La propriété ferment n'est donc pas inhérente à des cellules d'une nature spéciale. Ce n'est pas une propriété de structure permanente, comme, par exemple, celle d'être acide ou alcalin. C'est une propriété qui dépend de circonstances extérieures et d'un mode de nutrition de l'organisme.

§ II. — Fermentation dans les fruits sucrés plongés dans le gaz acide carbonique.

La conception à laquelle nous avons été conduit, au sujet des causes des phénomènes chimiques de la fermentation, offre un caractère de simplicité et de généralité très-digne d'attention. La fermentation n'est plus un de ces actes isolés et mystérieux sans explication possible. C'est la conséquence d'un phénomène vital, d'un phénomène de nutrition s'accomplissant dans des conditions déterminées, différentes de celles qui caractérisent la vie de tous les êtres ordinaires, animaux ou végétaux, mais auxquels ces derniers peuvent se prêter plus ou moins, ce qui les fait rentrer alors dans la classe des ferments proprement

dits. On conçoit même que le caractère ferment puisse être propre à tout organe, à toute cellule animale ou végétale, à la seule condition que dans celle-ci ait lieu momentanément ou d'une manière plus ou moins durable un travail chimique de vie ou d'assimilation et de désassimilation s'effectuant sans le concours de l'oxygène libre, c'est-à-dire avec une consommation de chaleur empruntée à la décomposition d'un corps qui cède de la chaleur dans cette décomposition.

Une conséquence de ces déductions est qu'il doit être facile de trouver, chez la plupart des êtres vivants, la manifestation des phénomènes de fermentation; car il n'en est peut-être pas chez lesquels tout travail chimique disparaîtrait entièrement par la cessation subite de la vie. Un jour, exposant ces idées dans mon laboratoire, en présence de M. Dumas qui était très-disposé à les trouver justes, j'ajoutai : « Je gagerais que si je plonge une grappe de raisin dans le gaz acide carbonique, il se fera aussitôt de l'alcool et de l'acide carbonique par un travail nouveau dans les cellules de l'intérieur des grains, qui agiront alors à la manière des cellules de levûre. Je vais faire cette expérience et demain à votre arrivée (j'avais alors la bonne fortune que M. Dumas vînt travailler dans mon laboratoire), je vous en rendrai compte. » Mes prévisions se réalisèrent; puis je recherchai, en présence de cet illustre maître et avec sa participation, des cellules de levûre dans les grains; il nous fut impossible d'en trouver (1)

(1) Pour constater l'absence des cellules de levûre dans les fruits qui ont séjourné dans le gaz acide carbonique, il faut commencer par enlever, avec précaution, la pellicule du fruit, en ayant soin que le parenchyme sous-jacent ne touche pas à la surface de cette pellicule; on pourrait être induit en erreur dans l'observation microscopique, par les corpuscules organisés extérieurs au fruit. Les expériences sur les raisins m'ont donné l'explication d'un fait de connaissance vulgaire, mais dont la cause était restée ignorée jusqu'ici. Tout le monde sait que la saveur et l'arome de la vendange, c'est-à-dire des raisins pris dans une cuve pleine de raisins égrappés et mouillés par le jus des grains déchirés, sont très-différents de ceux des grains d'une grappe intacte. Or, les raisins qui ont séjourné dans une atmosphère de gaz acide carbonique ont exactement le goût et le parfum de la vendange; c'est que dans la cuve de ven-

Encouragé par ce résultat, j'opérai de nouveau sur des raisins, sur un melon, sur des oranges, sur des prunes, sur des feuilles de rhubarbe qu'on venait de cueillir dans le jardin de l'École Normale, et, dans tous les cas, ces substances, plongées dans le gaz acide carbonique, donnèrent lieu à une production d'alcool et d'acide carbonique. Voici le résultat surprenant qu'offrirent des *prunes de Monsieur* (1). Le 31 juillet 1872, j'introduis vingt-quatre de ces prunes sous une cloche de verre que je remplis ensuite de gaz acide carbonique. Les prunes avaient été cueillies la veille. A côté de la cloche on en avait placé vingt-quatre autres non recouvertes. Huit jours après, pendant lesquels il s'était dégagé de la cloche un volume notable de gaz acide carbonique, on retira les prunes et on les compara avec celles des prunes qui étaient restées à l'air. La différence était saisissante, presque incroyable : tandis que les prunes entourées d'air (on sait depuis longtemps par les expériences de Bérard que, dans cette dernière condition, les fruits absorbent l'oxygène de l'air et dégagent du gaz carbonique en volume à peu près égal) étaient devenues très-molles, très-aqueuses, très-sucrées, les prunes sortant de

---

dange, les grains de raisin sont promptement enveloppés d'une atmosphère de gaz acide carbonique et qu'ils éprouvent, en conséquence, la fermentation propre aux grains de raisin plongés dans ce gaz. Ces faits mériteraient d'être suivis au point de vue pratique. Il serait intéressant de savoir quelle serait la différence de qualité entre deux vins, dont les grains producteurs auraient été, dans un cas, parfaitement écrasés, les cellules du parenchyme disjointes autant que possible, et dans l'autre pour la plupart entiers comme il arrive pour la vendange ordinaire. Le premier vin serait privé des principes fixes et odorants que développe la fermentation dont nous venons de parler, quand les grains séjournent dans le gaz acide carbonique. Par les épreuves comparatives dont je parle, on pourrait porter un jugement *a priori* sur l'emploi nouveau, mal étudié, quoique déjà assez répandu, de cylindres broyeurs cannelés pour écraser la vendange.

(1) J'ai trouvé quelquefois de petites quantités d'alcool dans les fruits et autres organes végétaux, entourés d'air ordinaire, mais toujours en faible proportion et d'une manière qui paraissait accidentelle. On comprend aisément que, dans l'épaisseur de certains fruits, il puisse y avoir privation d'air pour certaines parties du fruit, et qu'alors on retombe dans les conditions des fruits entièrement plongés dans le gaz carbonique. Il y aurait à rechercher cependant si l'alcool n'est pas un produit normal de la végétation.

dessous la cloche étaient très-fermes, dures, à chair non aqueuse, et avaient perdu beaucoup de sucre. Enfin soumises, après qu'on les eut écrasées, à la distillation, elles fournirent 6gr,5 d'alcool, plus de 1 pour 100 du poids total des prunes. Comment pourrait-on, mieux que par ces faits, établir l'existence dans les fruits d'un travail chimique considérable, travail qui a emprunté la chaleur nécessaire à sa manifestation, à la décomposition du sucre présent dans les cellules? Aussi, et c'est une circonstance très-digne d'attention; dans toutes ces expériences on constate un dégagement de chaleur dont les fruits et autres organes sont le siége dès qu'ils sont plongés dans le gaz carbonique. Cette chaleur est telle qu'on s'en aperçoit quelquefois à la main en touchant alternativement deux côtés de la cloche, lorsqu'un de ces deux côtés est en contact avec les objets. On s'en aperçoit encore à la buée de vapeur d'eau condensée en gouttelettes sur celles des parois de la cloche qui reçoivent moins directement l'influence de la chaleur de décomposition du sucre des cellules (1).

En résumé, la fermentation est un phénomène très-général. C'est la vie sans air, c'est la vie sans gaz oxygène libre, ou, plus généralement encore, c'est la conséquence d'un travail chimique accompli au moyen d'une substance fermentescible capable de produire de la chaleur par sa décomposition, travail qui emprunte précisément la chaleur qu'il consomme à

---

(1) J'ai rencontré dans ces études sur les plantes plongées, vivantes, dans le gaz acide carbonique, un fait qui corrobore ceux que j'ai déjà fait connaître sur la facilité avec laquelle les ferments lactiques, visqueux..... et, en général, ceux que j'ai appelés ferments de maladie de la bière, se développent à l'abri de l'air, et montre combien, par conséquent, ils ont le caractère anaérobie. Si l'on plonge des betteraves, navets..... dans le gaz acide carbonique, il s'établit dans ces racines des fermentations bien caractérisées. Toute leur surface laisse suinter bientôt des liquides très-acides, et elles se remplissent des levûres lactique, visqueuse et autres. Cela montre tout le danger que peuvent offrir les silos où l'on conserve les betteraves lorsque l'air ne s'y renouvelle pas, et que l'oxygène de l'origine est enlevé par la vie des moisissures, ou par d'autres actions chimiques désoxydantes. J'appelle sur ce point toute l'attention des fabricants de sucre de betteraves.

une partie de la chaleur que la décomposition de cette substance fermentescible met en liberté. La classe des fermentations proprement dites se trouve restreinte cependant par le petit nombre des substances capables de se décomposer avec production de chaleur et pouvant servir à l'alimentation des êtres inférieurs en dehors de la présence et de l'action de l'air. C'est encore une conséquence de la théorie fort digne d'être remarquée.

Les faits que je viens de mentionner relatifs à une production d'alcool et de gaz carbonique par les fruits mûrs dans certaines conditions particulières, en l'absence de la levûre, existaient déjà dans la Science. Ils avaient été découverts en 1869, par M. Lechartier, ancien élève de l'École Normale supérieure et par son collaborateur, M. Bellamy (1).

En 1821, dans un travail très-remarquable, surtout pour l'époque où il parut, Bérard avait démontré au sujet de la maturation des fruits plusieurs propositions importantes :

I. Tous les fruits, même les fruits encore verts, alors même également qu'ils sont exposés au soleil, absorbent le gaz oxygène et dégagent un volume à peu près égal de gaz acide carbonique. C'est une condition de leur maturation.

II. Les fruits mûrs placés dans une atmosphère limitée, après avoir absorbé tout le gaz oxygène et dégagé un volume à peu près égal de gaz acide carbonique, continuent de dégager du gaz acide carbonique en quantité notable, même lorsqu'il ne se manifeste aucune avarie, « comme par une sorte de fermentation », dit Bérard, et en perdant leur partie sucrée, ce qui fait que les fruits paraissent plus acides, quoique leur acidité réelle comme poids n'ait pas augmenté réellement.

Dans ce beau travail et dans tous ceux dont la maturation des fruits a été postérieurement l'objet, deux faits d'une grande valeur théorique avaient échappé à leurs auteurs, et ce sont ces

(1) Lechartier et Bellamy, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. LXIX, pages 366 et 466, année 1869.

deux faits qui ont été signalés pour la première fois par MM. Lechartier et Bellamy, à savoir, la production de l'alcool jointe à l'absence de cellules de levûre.

Il est remarquable que ces faits, j'en ai donné la preuve tout à l'heure, étaient absolument dans les prévisions de la théorie de la fermentation que j'ai proposée depuis l'année 1861, et je suis heureux d'ajouter que MM. Lechartier et Bellamy, qui n'avaient à l'origine déduit prudemment de leur travail aucune conséquence théorique, partagent entièrement aujourd'hui ma manière de voir (1). Cette logique n'a pas été celle des savants avec lesquels je me trouvais en discussion devant l'Académie des Sciences, au moment où la Communication que je fis à cette Académie, au mois d'octobre 1872, appela de nouveau l'attention sur les observations remarquables de MM. Lechartier et Bellamy (2): M. Fremy, notamment, voulut voir dans ces observations une confirmation de ses vues au sujet de l'hémiorganisme et une condamnation des miennes, tandis que, par les explications qui précèdent, et surtout par ma Note de 1861, citée textuellement au paragraphe qui précède, on ne saurait invoquer des faits plus probants que ceux

---

(1) Voici comment ils s'expriment : « Dans une Note présentée à l'Académie au mois de novembre 1872, nous avons publié des expériences constatant que de l'acide carbonique et de l'alcool prennent naissance dans des fruits maintenus en vase clos, à l'abri de l'oxygène de l'air, sans qu'il soit possible de trouver de ferment alcoolique à leur intérieur.

» M. Pasteur, comme déduction logique des principes qu'il a exposés sur la théorie des fermentations, considère que *la formation de l'alcool est due à ce que la vie physique et chimique des cellules du fruit se continue dans des conditions nouvelles, semblables à celles des cellules du ferment.* Des expériences continuées pendant les années 1872, 1873 et 1874 sur divers fruits nous ont donné des résultats qui, tous, nous paraissent être d'accord avec cette proposition et en constituer une véritable démonstration. » *Comptes rendus*, t. LXXIX, p. 949, année 1874.

(2) PASTEUR, *Faits nouveaux pour servir à la connaissance de la théorie des fermentations proprement dites.* (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. LXXV, p. 784). — *Voir*, dans le même volume, la discussion qui s'en est suivie et aussi : PASTEUR, *Note sur la production de l'alcool par les fruits*, même volume, p. 1054, où je rappelle les observations antérieures aux miennes, faites par MM. Lechartier et Bellamy, en 1869.

qui viennent de nous occuper en faveur des idées que je soutiens, puisque dès 1861 j'avais annoncé avec une grande précision que si l'on trouvait des plantes pouvant vivre à l'abri de l'air, en présence du sucre, elles provoqueraient la fermentation de cette substance à la manière de la levûre de bière. Tel est le cas des moisissures étudiées au Chapitre IV, et tel est aussi le cas des fruits dans les expériences de MM. Lechartier et Bellamy et dans les miennes propres qui les confirment, et qui les étendent, en ce sens que je démontre que les fruits donnent subitement, pour ainsi dire, de l'alcool quand on les entoure de gaz acide carbonique. Plongés dans l'air, ils vivent sous leur état aérobie et ne sont pas ferments ; plongés aussitôt après dans le gaz acide carbonique, ils vivent sous leur état anaérobie et ils deviennent, sur-le-champ, des ferments pour le sucre, avec dégagement de chaleur. Quant à voir dans ces faits une confirmation de la théorie de l'hémiorganisme, imaginée par M. Fremy, la prétention en est vraiment étrange. Voici, par exemple, la théorie de la fermentation de la vendange d'après M. Fremy (*Comptes rendus*, séance du 15 janvier 1872) :

« Pour ne parler ici que de la fermentation alcoolique (1)

---

(1) En effet, M. Fremy applique la théorie de l'hémiorganisme, non-seulement à la fermentation alcoolique du suc de raisin, mais à toutes les autres fermentations. Voici un passage d'une de ses Notes : (*Comptes rendus de l'Académie*, t. LXXV, p. 979, 28 octobre 1872).

Expériences sur l'orge germée. — « Elles ont pour but d'établir que, quand l'orge est abandonnée dans de l'eau sucrée et qu'elle produit successivement les fermentations alcoolique, lactique, butyrique et acétique, ces modifications sont dues à des ferments qui s'engendrent dans l'intérieur même des grains et non à des germes atmosphériques. Cette partie de mon travail comprend plus de quarante expériences différentes. »

Ai-je besoin d'ajouter que cette assertion ne repose sur aucun fondement sérieux ? Les cellules des grains d'orge ou leurs matières albuminoïdes n'ont jamais engendré ni cellules de levûre alcoolique, ni cellules de levûre lactique, ni vibrions butyriques. Ces ferments, quand ils apparaissent, proviennent des germes de ces organismes répandus dans l'intérieur des grains ou à leur surface extérieure, ou dans l'eau employée, ou à la surface des parois des vases. Il y a bien des manières de le prouver. En voici une : puisque mes expériences ont établi que de l'eau sucrée, des phosphates et de la craie donnent très-facilement des fermenta-

dit-il, j'admets que dans la production du vin c'est le suc même du fruit qui, au contact de l'air, donne naissance aux grains de levûre par la transformation de la matière albumineuse, tandis que M. Pasteur soutient qu'elle a pour origine des germes extérieurs à l'enveloppe des grains. »

Quel secours peut prêter à cette théorie tout imaginaire le fait qu'un fruit entier plongé dans le gaz carbonique fournit aussitôt de l'alcool et du gaz carbonique? Dans la citation qui précède, empruntée à M. Fremy, une condition *sine qua non* de la transformation de la matière albumineuse réside dans le contact de l'air et l'écrasement des grains. Or, ici nous avons des *fruits entiers au contact du gaz acide carbonique.* Dans mon opinion, au contraire, émise, je le répète, dès 1861, non pour le besoin d'une cause à défendre, des cellules quelconques deviennent ferment quand leur vie se poursuit en l'absence de l'air, et telles sont précisément les conditions de l'expérience des fruits plongés dans le gaz acide carbonique. La vie n'est pas subitement suspendue dans leurs cellules, et celles-ci sont privées d'air. En conséquence, il doit y avoir fermentation. J'ajoute, que si l'on détruit le fruit, si on le broie avant de le plonger dans le gaz, il ne se fait plus d'alcool ni de fermentation quelconque; cela doit être encore puisque la vie n'est plus possible dans un fruit broyé. Qu'importe, au contraire, ce broiement dans l'hypothèse de l'hémiorganisme. Ce fruit broyé devrait agir tout aussi bien et même mieux que celui qui ne l'est pas.

En résumé, rien de plus directement opposé aux conditions de la manifestation de cette force occulte qu'on appelle l'*hémiorganisme* que la découverte de la production de certains phénomènes de fermentation dans les fruits entourés de gaz

---

tions lactique et butyrique, pourquoi vouloir que, si l'on remplace la craie par des grains d'orge, les ferments lactique et butyrique sortent des grains par transformation de leurs cellules ou de leurs substances albumineuses? Certes, on ne saurait soutenir que c'est l'hémiorganisme qui les forme, quand le milieu est composé de sucre, de craie et de phosphates d'ammoniaque, de potasse et de magnésie puisqu'il n'y a pas de matières albuminoïdes. La preuve contre l'hémiorganisme est indirecte, mais irrésistible.

carbonique, tandis que la théorie qui voit dans la fermentation une conséquence de la vie sans air trouve dans ces faits la réalisation d'une de ses prévisions explicites et qu'elle avait nettement formulées dès l'origine.

J'aurais tort de m'appesantir plus longtemps sur des opinions qu'aucune expérience sérieuse ne justifie. A l'étranger, la théorie de la transformation des matières albuminoïdes en ferments organisés avait été préconisée (comme en France, du reste,) longtemps avant qu'elle ne fût reprise par M. Fremy. Elle y a perdu tout crédit : les observateurs qui comptent n'y donnent plus aucune attention. On pourrait même ajouter qu'ils s'en amusent.

On a tenté également de me mettre en contradiction avec moi-même, parce qu'en 1860 j'avais écrit que je pensais qu'il n'y a jamais fermentation alcoolique sans qu'il y ait simultanément organisation, développement, multiplication de globules ou viepoursuivie, continuée de globules déjà formés (1). Mais rien n'est plus vrai que cette opinion, et aujourd'hui, à la suite des quinze années d'études qui ont suivi la publication que je rappelle, je ne dirais plus : « je pense », mais bien « j'affirme » que cela est ainsi. C'est, en effet, de la fermentation alcoolique proprement dite

---

(1) PASTEUR, *Mémoire sur la fermentation alcoolique*, 1860; *Annales de Chimie et de Physique*. Le mot *globules* est ici employé pour le mot *cellules*.

Dès l'origine de mes recherches, j'ai essayé de prévenir toute confusion dans le discours. Voici le début de mon Mémoire de 1860 sur la fermentation alcoolique :

« J'appelle *fermentation alcoolique*, la fermentation qu'éprouve le sucre sous l'influence du ferment qui porte le nom de *levûre de bière*. »

C'est la fermentation qui donne le vin et toutes les boissons alcooliques. C'est elle également qui a servi de type à une multitude de phénomènes analogues que l'on désigne, suivant un usage général, par le mot générique de *fermentation*, suivi de la dénomination de l'un des produits essentiels du phénomène particulier que l'on envisage.

De cette convention, relative à la nomenclature adoptée, il résulte que l'expression de *fermentation alcoolique* ne peut pas désigner tout phénomène de fermen-

qu'il s'agissait dans la citation précédente, de cette fermentation qui donne, outre l'alcool, de l'acide carbonique, de l'acide succinique, de la glycérine, des acides volatils, etc. Cette fermentation exige réellement la présence des cellules de la levûre dans les conditions que je viens de mentionner. L'erreur de mes contradicteurs provient de ce qu'ils se sont imaginé que la fermentation des fruits est une fermentation alcoolique ordinaire, identique à celle qui est due à la levûre de bière et que, dès lors, les cellules de cette levûre devraient être présentes. Rien de moins fondé. Quand on en viendra à des mesures précises, et cela résulte déjà des nombres fournis par MM. Lechartier et Bellamy, on verra que les proportions d'alcool et de gaz acide carbonique dans la fermentation des fruits sont loin d'être celles qu'on observe dans les fermentations alcooliques proprement dites, ce qui doit être, puisque, dans un cas, le ferment est formé par les cellules d'un fruit, dans l'autre par les cellules de la levûre alcoolique ordinaire. Je suis convaincu même que chaque fruit donnerait lieu à une équation spéciale et différente de celle des autres fruits. Quant à cette circonstance que les cellules de ces fruits provoquent la fermentation sans se multiplier, elle rentre dans le cas que j'ai distingué ci-dessus par l'expression de *vie continuée de cellules déjà formées*.

Je crois devoir terminer ce paragraphe par quelques remar-

---

tation où il se produirait de l'alcool; car il peut y en avoir de diverses sortes ayant ce caractère commun.

Si l'on ne s'entendait à l'avance sur celui de ces phénomènes fort distincts qui devra porter, à l'exclusion des autres, le nom de *fermentation alcoolique*, on donnerait lieu inévitablement à une confusion de langage qui passerait bien vite des mots aux idées, et jetterait le trouble dans des études déjà, par elles-mêmes, assez obscures pour que l'on évite avec des soins scrupuleux une complication artificielle.

Toute hésitation sur les mots *fermentation alcoolique*, et leur véritable sens m'a d'ailleurs paru impossible, puisqu'ils ont été appliqués par Lavoisier, Gay-Lussac et Thénard à la fermentation du sucre par la levûre de bière. Il y aurait danger sans profit à ne pas suivre l'exemple de ces maîtres illustres, qui ont fondé nos premières connaissances sur ce sujet.

ques au sujet des équations des fermentations; elles me sont suggérées principalement par les interprétations auxquelles a donné lieu la fermentation des fruits plongés dans le gaz acide carbonique.

Lorsqu'on assimilait les fermentations à des décompositions par actions de contact, on devait croire et l'on croyait réellement qu'il existait pour chaque fermentation une équation fixe déterminée, invariable. Aujourd'hui, il faut comprendre, au contraire, que l'équation d'une fermentation est essentiellement variable avec les conditions dans lesquelles elle s'accomplit, et que la recherche de cette équation est un problème aussi compliqué que celui de la nutrition chez un être vivant. Chaque fermentation a une équation qu'on peut assigner d'une manière générale, mais qui, dans le détail, est assujettie aux mille variations que comportent les phénomènes de la vie. En outre, autant de substances fermentescibles pourront servir d'aliment carboné à un même ferment, autant de fermentations distinctes pourront être provoquées par ce ferment, tout comme chez un animal, l'équation de la nutrition varie avec la nature de ses aliments.

En ce qui concerne la fermentation alcoolique qui comporte plusieurs levûres différentes, il existera, pour un sucre donné, autant d'équations générales qu'il y a de ces levûres, que ce soient des cellules de levûres proprement dites, ou des cellules d'organes d'êtres vivants, agissant à la manière de ces levûres. C'est ainsi que l'équation de la nutrition n'est pas la même chez des animaux différents qui se nourrissent d'un même aliment. C'est pour cela qu'il existe un grand nombre de variétés de bières que fournit le moût de bière ordinaire lorsqu'il est soumis aux nombreuses levûres alcooliques que nous avons décrites.

Ces remarques s'appliquent à tous les ferments : le ferment butyrique, par exemple, est capable de produire une foule de fermentations distinctes, parce qu'il peut emprunter son aliment carboné à des produits très-divers, sucre, acide lactique, glycérine, mannite, etc.

Quand on dit que chaque fermentation a un ferment qui lui est propre, il faut entendre qu'il s'agit d'une fermentation considérée dans l'ensemble de tous ses produits : cette assertion ne peut signifier que le ferment dont il s'agit ne sera pas capable d'agir sur une autre substance fermentescible, et de donner lieu à une fermentation très-différente.

Il est encore tout à fait inexact de prétendre qu'un seul des produits d'une fermentation entraîne la présence d'un ferment déterminé. Trouve-t-on, par exemple, l'alcool au nombre des produits d'une fermentation et même tout à la fois l'alcool et l'acide carbonique, cela ne signifie point que le ferment doive être une levûre alcoolique des fermentations alcooliques proprement dites. La présence de l'acide lactique n'entraîne pas davantage la présence obligée de la levûre lactique. Des fermentations distinctes peuvent, en effet, donner lieu à un ou même à plusieurs produits identiques. On ne pourrait affirmer qu'on a affaire à la fermentation alcoolique proprement dite et qu'il doit y avoir présence de la levûre de bière qu'autant qu'on aurait constaté l'existence de tous les produits si nombreux de cette fermentation et dans les relations qui la caractérisent pour les conditions où elle aurait eu lieu.

Dans les écrits sur la fermentation, le lecteur rencontrera fréquemment les confusions contre lesquelles j'essaye ici de le prémunir. C'est précisément pour n'avoir pas eu présentes à l'esprit les remarques qui précèdent qu'on a pu croire que la fermentation dans les fruits plongés dans le gaz acide carbonique, était en contradiction avec cette assertion ancienne de mon Mémoire sur la fermentation alcoolique, publié en 1860, que je reproduis intégralement : « L'acte chimique de la fermentation est essentiellement un phénomène corrélatif d'un acte vital commençant et s'arrêtant avec ce dernier ; je pense qu'il n'y a jamais fermentation alcoolique (il s'agissait de la fermentation alcoolique ordinaire par la levûre de bière) sans qu'il y ait simultanément organisation, développement, multiplication de globules ou vie poursuivie, continuée de globules déjà formés. L'ensemble des résultats de ce Mémoire me paraît en opposition complète

avec les opinions de MM. Liebig et Berzelius. » Ces conclusions, je le dis encore, n'ont pas cessé d'être vraies et elles s'appliquent aussi bien à la fermentation des fruits, qui n'était pas connue en 1860, qu'à la fermentation par la levûre de bière. Seulement, pour les fruits, ce sont les cellules du parenchyme qui sont le ferment, *par continuation de leur vie dans le gaz acide carbonique*, tandis que dans l'autre cas (celui de la citation), le ferment est constitué par les cellules de la levûre.

Il n'y aurait lieu de s'étonner qu'une fermentation prît naissance dans les fruits avec formation d'alcool, sans la présence de la levûre, que si cette fermentation des fruits se confondait absolument avec la fermentation alcoolique ordinaire, donnant les mêmes produits, dans les mêmes proportions. C'est par abus de langage qu'on l'a appelée *fermentation alcoolique* et c'est là ce qui a trompé diverses personnes (1). Ni l'alcool, ni l'acide carbonique ne s'y trouvent dans les proportions de la fermentation par la levûre et si l'on constatait la présence, dans cette fermentation, de l'acide succinique, de la glycérine, d'une petite quantité d'acides volatils, etc. (1), les proportions relatives de ces substances seraient autres que dans la fermentation alcoolique.

§ III. — Réponse a des observations critiques dés naturalistes allemands Oscar Brefeld et Moritz Traube.

La vérité de la théorie de la fermentation, à laquelle j'ai été

---

(1) *Voir*, par exemple, les communications de MM. Colin et Poggiale et la discussion qui s'en est suivie, dans le *Bulletin de l'Académie de Médecine* des 2, 9, 30 mars et 16 et 23 février 1875.

(2) J'ai constaté autrefois la formation de très-petites quantités d'acides volatils dans la fermentation alcoolique. M. Béchamp les étudia et reconnut des acides de la série des acides gras, acide acétique, acide butyrique...

« La présence de l'acide succinique n'est point accidentelle, mais constante, et » si on laisse de côté les acides volatils qui se forment en quantités, pour ainsi » dire infiniment petites, on peut dire que l'acide succinique est le seul acide » normal de la fermentation alcoolique. » Pasteur, *Comptes rendus de l'Académie*, t. XLVII, p. 224, année 1858.

conduit dans les paragraphes précédents, est renfermée, pour une part principale, dans cette affirmation, que les ferments proprement dits constituent une classe d'êtres ayant la propriété de vivre hors du contact du gaz oxygène libre. On pourrait exprimer cette théorie sous cette forme concise: la fermentation est la conséquence de la vie sans air.

Si cette affirmation n'était pas rigoureuse, si les cellules des levûres, pour s'accroître, pour augmenter de nombre et de poids, avaient besoin, comme toutes les cellules végétales, de gaz oxygène libre ou dissous dans les liquides, la théorie nouvelle perdrait toute autorité, et jusqu'à sa raison d'être, du moins en ce qui concerne la plus importante des fermentations. C'est précisément ce qu'a voulu établir M. Oscar Brefeld, dans un Mémoire lu à la Société physico-médicale de Wurzbourg, le 26 juillet 1873, Mémoire qui témoigne d'une grande aptitude expérimentale chez son auteur, quoique, suivant moi, celui-ci soit arrivé à des conclusions entièrement contraires à la vérité :

« Des expériences, dit-il, que je viens de décrire, il résulte, sans aucun doute, que *la levûre ne peut pas s'accroître sans oxygène libre*. L'hypothèse de Pasteur, que la levûre, contrairement à tous les autres organismes vivants, peut vivre et s'accroître aux dépens d'oxygène combiné, manque par conséquent de tout fondement effectif, de toute base expérimentale. Comme, en outre, d'après la théorie de Pasteur, c'est précisément sur la propriété de la levûre de pouvoir vivre et s'accroître aux dépens d'oxygène combiné, que repose le phénomène de la fermentation, il en résulte que toute la théorie qui jouit d'un acquiescement si général est devenue insoutenable; elle est tout simplement inexacte. »

Les expériences dont parle le Dr Brefeld consistaient à suivre au microscope, dans une *chambre* préparée *ad hoc*, une ou plusieurs cellules de levûre dans du moût de bière, au sein d'une atmosphère de gaz acide carbonique, entièrement privée des plus petites traces de gaz oxygène libre. Mais nous avons reconnu que l'accroissement de la levûre hors du contact de l'air n'est possible que pour une levûre très-jeune. Or l'auteur a em-

ployé de la levûre de brasserie après fermentation, et telle a été la cause de l'insuccès de ses cultures. Le D^r Brefeld, à son insu, a opéré sur un des états de la levûre qui exigent de l'oxygène gazeux pour qu'elle rentre en germination : qu'on lise ce que j'ai dit précédemment du rajeunissement de la levûre, suivant son âge, et l'on reconnaîtra combien les temps nécessaires à ce rajeunissement peuvent différer. Ce qui est vrai pour un état de la levûre aujourd'hui peut ne plus l'être demain, parce qu'elle se modifie sans cesse.

J'ai établi, autrefois, combien était énergique et facile la végétation de la levûre en présence du gaz oxygène libre, et j'ai montré le rôle considérable qu'avait dans les fermentations la très-petite quantité de gaz oxygène dissous dans les liquides de fermentation au début de la fermentation. C'est cet oxygène qui rajeunit les cellules du levain et qui leur permet de reprendre la faculté de bourgeonner et de poursuivre leur vie et leur multiplication à l'abri de l'air.

Une réflexion simple aurait dû, ce me semble, prémunir le D^r Brefeld contre l'interprétation qu'il a donnée à ses observations. Si une cellule de levûre ne peut bourgeonner ni s'accroître sans absorber du gaz oxygène libre ou dissous dans le liquide, le rapport entre le poids de levûre formée et le poids d'oxygène utilisé doit être constant. Or j'avais établi clairement, dès 1861, que ce rapport est extrêmement variable, ce qui est hors de doute d'ailleurs par les expériences que j'ai fait connaître dans le paragraphe précédent. A la suite de l'absorption de faibles quantités d'oxygène, un poids considérable de levûre peut prendre naissance et d'un autre côté si la levûre a beaucoup d'oxygène à sa disposition, elle en absorbe beaucoup et le poids qui s'en forme est plus considérable encore. Le rapport du poids de levûre formée au poids de sucre décomposé, passe par toutes les grandeurs entre des limites très-éloignées et ces variations sont sous la dépendance de l'absorption plus ou moins grande du gaz oxygène libre. C'est, à mon avis, un des fondements de la théorie que je propose.

Lorsque le D^r Brefeld a dénoncé l'impossibilité, suivant lui, que

la levûre pût se passer d'air ou d'oxygène pour vivre et qu'elle ne saurait échapper à la loi qui régit sous ce rapport tous les êtres vivants, animaux ou végétaux, il aurait pu se souvenir également que la levûre alcoolique n'est pas le seul ferment organisé vivant que j'aie signalé comme étant anaérobie. Or il importe peu vraiment que la loi de la nécessité de l'oxygène libre et de la respiration incessante au contact de l'air pour l'entretien de la vie soit battue en brèche, dans sa généralité d'application, par un ferment ou par un autre. Pourquoi, par exemple, le Dr Brefeld n'a-t-il pas tenu compte des faits relatifs aux vibrions de la fermentation butyrique? Sans doute, il aura pensé que, pour ceux-ci comme pour la levûre, j'avais dû me tromper. Des expériences directes l'auraient aisément désabusé.

Les reproches que j'adresse au Dr Brefeld s'appliquent à M. Moritz Traube, quoique, sur le point capital de la critique du Dr Brefeld, M. Traube ait défendu l'exactitude de mes résultats devant la Société chimique de Berlin, en prouvant par de nouvelles expériences que la levûre peut vivre et se multiplier sans l'intervention du gaz oxygène : « Mes recherches, dit-il, confirment d'une façon indiscutable l'assertion de M. Pasteur, à savoir que la multiplication de la levûre a lieu dans les milieux qui ne contiennent aucune trace d'oxygène libre. » — « L'assertion contraire de M. Brefeld est erronée. » Mais, aussitôt après, M. Traube ajoute : « Est-ce là une confirmation de la théorie de Pasteur? Nullement. Les résultats de mes expériences démontrent au contraire que cette théorie n'est pas fondée. » Quels sont donc ces résultats? Tout en constatant la vie de la levûre sans air, M. Traube la trouva, ainsi que moi-même du reste, très-pénible dans ces conditions; il n'obtint jamais que des commencements de fermentation, sans doute pour deux motifs : d'un côté par la production accidentelle de fermentations secondaires et *maladives* qui souvent arrêtent la propagation de la levûre alcoolique, et de l'autre par l'état de vieillesse originelle de la levûre employée. Dès 1861, j'ai signalé la vie lente et difficile de la levûre hors du contact de l'air, et tout à l'heure, au paragraphe précédent, j'ai fait connaître également des fermentations qui

ne s'achèvent pas dans ces conditions. Sans rechercher les causes de ces particularités, M. Traube s'exprime ainsi : « La conclusion de Pasteur que la levûre en l'absence de l'air peut prendre au sucre l'oxygène nécessaire à son développement est erronée; car son accroissement s'arrête, même quand la plus grande partie du sucre est encore indécomposée. *Ce sont les corps albumineux mélangés, que la levûre, à l'abri de l'air, emploie à son développement.* » Cette dernière assertion de M. Traube tombe entièrement devant ces fermentations dans lesquelles j'ai supprimé la présence des matières albuminoïdes et où néanmoins, à l'abri de l'air, les fermentations s'achèvent dans un milieu purement minéral, ce dont nous allons avoir des preuves irréfutables (1).

§ IV. — Fermentation du tartrate de chaux droit (2).

Le tartrate de chaux, malgré son insolubilité dans l'eau, peut fermenter complétement dans un milieu minéral.

---

(1) Les conceptions de Traube étaient dominées par une théorie de la fermentation qui lui est personnelle, théorie hypothétique, il le reconnaît lui-même, et dont voici l'exposé succinct : « Rien ne s'oppose donc à supposer, dit Traube, que le protoplasma des cellules végétales est lui-même, ou bien renferme, un ferment chimique produisant la fermentation alcoolique du sucre : son efficacité paraît se rattacher à la présence de la cellule, parce que jusqu'ici on n'a trouvé aucun moyen de l'isoler des cellules sans le décomposer. En présence de l'air, ce ferment oxyde le sucre en fixant sur lui l'oxygène ; à l'abri de l'air, il le décompose en transportant l'oxygène d'un groupe d'atomes de la molécule de sucre sur d'autres atomes, en donnant d'un côté un produit de réduction de l'alcool et de l'autre un produit d'oxydation de l'acide carbonique. »

Traube suppose que ce ferment chimique est dans la levûre et dans tous les fruits doux, mais seulement dans les cellules intactes, car il a constaté lui-même que les fruits bien broyés ne donnent plus lieu à aucune fermentation dans le gaz carbonique. Sous ce rapport, ce ferment chimique imaginaire différerait entièrement de ce qu'on appelle *ferments solubles*, car la diastase, l'émulsine,... peuvent s'isoler facilement.

Pour tout ce qui concerne les idées de Brefeld et de Traube et la discussion qui s'est élevée entre eux au sujet des résultats de mes expériences, il faut consulter le *Bulletin de la Société chimique de Berlin*, t. VII, p. 872, et même recueil, cahiers de septembre et de décembre 1874, qui contiennent les répliques des deux auteurs.

(2) *Voir* Pasteur, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. LVI, p. 416.

Que dans de l'eau pure on dépose du tartrate de chaux pur en poudre grenue, cristalline, du sulfate d'ammoniaque et des phosphates de potasse et de magnésie en très-petites proportions, un mouvement de fermentation spontanée s'établira les jours suivants dans le dépôt, quoique aucune semence n'ait été ajoutée. Un ferment organisé vivant, du genre vibrionien, filiforme, à mouvement flexueux, souvent d'une longueur démesurée, se forme spontanément par le développement de quelque germe associé aux inévitables poussières flottant dans l'atmosphère ou déposées sur les vases ou sur les matériaux mis en œuvre. Les germes des vibrions de la putréfaction sont partout répandus autour de nous et c'est, vraisemblablement, un ou plusieurs de ces germes qui poussent dans le milieu dont il s'agit et provoquent la décomposition du tartrate, auquel les vibrions empruntent tout au moins l'aliment carboné dont ils ne peuvent se passer, pendant que l'azote est fourni par l'ammoniaque du sel d'ammoniaque, les principes minéraux par les phosphates de potasse et de magnésie et le soufre par le sulfate d'ammoniaque. Qu'il est curieux de voir l'organisation, la vie et le mouvement naître dans de telles conditions ! Il est plus surprenant encore que cette organisation, cette vie, ce mouvement s'accomplissent sans la participation de l'oxygène libre. Après que le germe a reçu du gaz oxygène la première impulsion, des générations successives naissent indéfiniment à l'abri absolu de l'air atmosphérique. Voilà le fait qu'il importe de mettre hors de doute, afin de prouver que la levûre de bière n'est pas le seul ferment organisé pouvant vivre et se multiplier hors de l'influence du gaz oxygène libre.

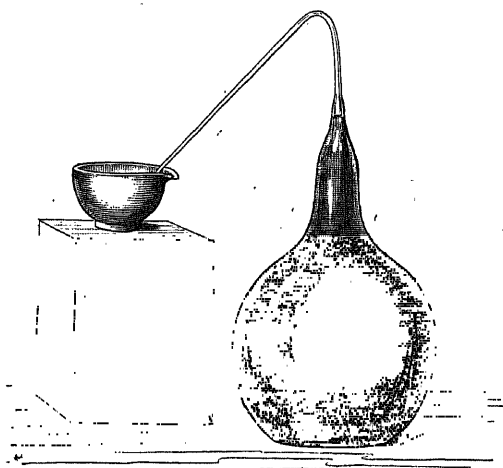
Dans la fiole représentée (*fig.* 67), d'une capacité de $2^{\text{lit}},5$, j'introduis :

	gr
Tartrate neutre de chaux, cristallisé, pur..	100
Phosphate d'ammoniaque..............	1
» de magnésie................	1
» de potasse	0,5
Sulfate d'ammoniaque................	0,5

Le reste en eau distillée pure, de façon à remplir complétement la fiole.

Afin de chasser tout l'air contenu dans l'eau en dissolution et adhérent aux matériaux solides, on place d'abord la fiole dans un bain de chlorure de calcium renfermé dans un large vase cylindrique en fer-blanc, établi sur un foyer. Le tube abducteur de la fiole plonge dans un vase à précipité en verre de Bohême rempli aux trois quarts d'eau distillée et reposant également sur un foyer. On porte les liquides de la fiole et du vase de Bohême à l'ébullition pendant assez longtemps pour chasser tout l'air contenu dans ces liquides. Alors on retire le feu sous le vase de Bohême et aussitôt après on recouvre l'eau qu'il renferme d'une couche d'huile, puis on laisse refroidir.

Le lendemain, on applique le doigt sur l'extrémité ouverte du tube abducteur, qu'on fait plonger dans un vase plein de mercure. Dans l'expérience que je vais plus particulièrement décrire, on laissa la fiole deux semaines dans cet état. Elle y serait restée un siècle qu'elle n'aurait jamais manifesté la moindre fermenta-

Fig. 67.

tion, parce que la fermentation du tartrate est la conséquence de la vie et que la vie après l'ébullition n'existait plus dans la fiole.

Lorsqu'il fut bien constaté que tout était inerte dans la fiole, on la mit en levain, rapidement, comme il suit : tout le liquide contenu dans le tube abducteur fut enlevé à l'aide d'un tube fin en caoutchouc, et remplacé par 1^{cc} environ de liquide et de dépôt d'une autre fiole pareille à celle-ci, mais qui était en fermentation spontanée depuis douze jours ; on acheva sans retard de remplir le tube abducteur avec de l'eau portée d'abord à l'ébullition et refroidie dans le gaz acide carbonique. Cette manipulation ne prend que quelques minutes. Le tube abducteur est de nouveau plongé dans le mercure. A partir de ce moment on ne sort plus ce tube du mercure, et, comme il a été soudé à la fiole, qu'il n'y a ni bouchon de liége, ni caoutchouc, toute introduction d'air est impossible. La petite quantité d'air que la mise en levain a introduite est insignifiante, et même il serait facile de prouver qu'elle nuit au levain plus qu'elle ne le sert, parce que celui-ci est formé d'individus adultes qui ont vécu sans air et que l'air rend malades et peut même tuer. Quoi qu'il en soit, au paragraphe suivant, je supprimerai encore cette possibilité d'une aération, si minime qu'elle puisse être, afin d'éloigner toute incertitude.

Les jours suivants la semence se multiplie, le dépôt de tartrate disparaît peu à peu, en manifestant à sa surface et dans sa masse un travail sensible. Le dépôt est comme soulevé par places et se recouvre d'une couche d'un gris noirâtre, gonflée, d'aspect organique et gélatiniforme.

Pendant plusieurs jours et malgré ce travail dans le dépôt, on ne voit pas de gaz se dégager, à moins qu'on n'agite un peu la fiole, auquel cas des bulles assez grosses fixées au dépôt se soulèvent, emportant quelques parcelles solides qui retombent promptement pendant que les bulles diminuent de volume en s'élevant, parce que, le liquide n'étant pas encore saturé, elles se dissolvent partiellement. Les très-petites bulles ont même le temps de se dissoudre complétement pendant leur ascension à travers la masse liquide. Enfin le liquide se sature et le tartrate fait place peu à peu à des croûtes mamelonnées ou à des cristaux nets et limpides de carbonate de chaux au fond et sur les parois du vase.

La mise en levain avait eu lieu le 10 février. Le 15 mars, le liquide approche de la saturation. Les bulles commencent à persister dans la partie courbe du tube abducteur au haut de la fiole. Une éprouvette renversée pleine est établie sur le mercure où plonge le tube abducteur, afin que pas une bulle du gaz qui va se dégager ne puisse se perdre sans être recueillie et mesurée. Du 17 au 18 le dégagement du gaz est continu : on en recueille $17^{cc},4$. Comme on pouvait le prévoir, puisque tout à l'heure la dissolution en était complète, ce gaz est formé d'acide carbonique pur.

Le liquide qui, le lendemain de la mise en levain, s'était troublé, est redevenu malgré le dégagement du gaz, d'une limpidité si grande que je lis mon écriture à travers la panse de la fiole. Néanmoins, un travail très-actif a lieu dans le dépôt, mais c'est là qu'il est concentré. Comment, en effet, les vibrions qui y pullulent pourraient-ils être ailleurs? Le tartrate de chaux est plus insoluble encore dans l'eau saturée de carbonate de chaux que dans l'eau pure. L'aliment carboné, tout au moins, fait donc absolument défaut dans l'intérieur du liquide. Tous les jours on continue de recueillir et d'analyser la totalité du gaz qui se dégage. Jusqu'à la fin, il est composé de gaz acide carbonique pur. Dans les premiers jours seulement l'absorption par la potasse concentrée laissa un très-faible résidu.

Le 26 avril tout dégagement de gaz a cessé. Les dernières bulles se sont élevées dans la journée du 23 avril. La fiole était toujours restée à l'étuve de 25° à 28°. Le volume de gaz recueilli a été de $2^{lit},135$. Pour avoir le volume total de gaz formé, il faut ajouter celui qui est retenu en dissolution à l'état de carbonate acide de chaux. A cet effet, on a fait passer une partie du liquide de la fiole dans une autre fiole semblable, plus petite, jusqu'à un trait de jauge marqué sur le goulot (1). Cette fiole avait

(1) Il ne faut pas remplir la petite fiole complétement, parce qu'on s'exposerait à faire passer une partie du liquide sur le mercure sous l'éprouvette.

Ce qui se condense de liquide par l'ébullition à la fin du dosage est de l'eau pure, dont on connaît le pouvoir dissolvant pour l'acide carbonique, à la température à laquelle on opère.

été au préalable remplie de gaz acide carbonique, puis on a fait dégager l'acide carbonique du liquide fermenté par la chaleur en le recueillant sur le mercure. Calcul fait, on a obtenu un volume total de $8^{lit},322$ de gaz dissous, lesquels, ajoutés aux $2^{lit},135$, ont produit $10^{lit},457$ à 20° et 760, soit à zéro et 760 un poids de $19^{gr},700$ d'acide carbonique.

La moitié exactement de la chaux du tartrate employé se trouve fixée sur les sels solubles formés pendant la fermentation; l'autre moitié est, partie à l'état de carbonate de chaux précipité, partie en dissolution dans le liquide à la faveur de l'acide carbonique. Les sels solubles m'ont paru être un mélange ou une combinaison de $1^{éq}$ de métacétate de chaux et de $2^{éq}$ d'acétate, pour un dégagement de $10^{éq}$ d'acide carbonique, le tout correspondant à la fermentation de trois équivalents de tartrate neutre de chaux (1). Mais ce point mériterait de nouvelles études et je ne donne que sous réserve la nature des produits formés. Ce point importe peu : ce n'est pas l'équation de la fermentation qui nous intéresse.

Après que la fermentation fut achevée, il ne restait pas trace de tartrate de chaux au fond du vase. Ce sel s'était peu à peu dissous en se décomposant dans les divers produits de la fermentation; à sa place, était du carbonate de chaux cristallisé,

(1) Voici une conséquence curieuse de ces nombres et de la nature des produits de cette fermentation.

L'acide carbonique qui se dégage étant tout à fait pur, surtout quand le liquide a été porté à l'ébullition afin de chasser tout l'air de la fiole, et cet acide carbonique pouvant se dissoudre complétement, il en résulte que, au fur et à mesure de sa formation, si le volume du liquide était suffisant et le poids de tartrate convenablement choisi, on pourrait abandonner du tartrate de chaux en poudre cristalline insoluble et des phosphates au fond d'un vase plein d'eau et bouché, et retrouver ensuite, à sa place, du carbonate de chaux et dans le liquide des sels de chaux dissous, avec un amas de matière organique au fond, sans que, à aucun moment, il y ait eu dégagement de gaz et apparence de fermentation, si ce n'est par le travail de vie et de transformation qu'on apercevrait dans le dépôt du tartrate.

Il est facile de calculer qu'une fiole ou un ballon de 5^{lit} suffirait pour accomplir cette singulière et si tranquille transformation portant sur 50 grammes de tartrate de chaux.

l'excès de celui qui n'avait pu se dissoudre à la faveur de l'acide carbonique; mais ce carbonate de chaux était associé à une sorte de matière animale qui, au microscope, était formée d'amas granuleux et de filaments très-ténus, les uns courts, les autres plus longs, comme pointillés dans leur longueur et offrant tous les caractères d'une matière organique azotée (1).

Que ce soit là le ferment, la chose est déjà assez évidente par tout ce que nous venons de dire; pour mieux s'en convaincre et voir en quelque sorte cette matière en action et en pleine vie, il faut faire l'observation complémentaire suivante. Parallèlement à l'expérience que nous venons de décrire, on en avait mis en train une autre toute semblable, qui fut sacrifiée lorsque la fermentation était déjà avancée et le tartrate dissous, pour moitié environ. Par un trait de lime, on détacha le tube abducteur à la naissance du col de la fiole et à l'aide d'un tube vertical on alla chercher au fond une partie du dépôt pour l'examiner au microscope.

On vit alors une foule de longs filaments, très-grêles, n'ayant que $\frac{1}{1000}$ environ de millimètre de diamètre, mais dont la

Fig. 68.

longueur variable atteignait jusqu'à $\frac{1}{20}$ de millimètre. Une foule de ces longs vibrions se mouvaient en rampant lentement d'un mouvement flexueux montrant jusqu'à trois, quatre, cinq

(1) On a traité tout le dépôt par l'acide chlorhydrique étendu, qui a dissous le carbonate de chaux et les phosphates de chaux et de magnésie restés à l'état insoluble, puis on a filtré sur un filtre taré. Après dessiccation à 100°, on a obtenu 0,54 pour le poids de la matière organique, soit un peu plus de $\frac{1}{200}$ du poids de la matière fermentescible.

flexions. Les filaments qui ne se mouvaient pas avaient le même aspect que ces derniers, avec cette seule différence qu'ils étaient comme ponctués, comme formés d'une suite de granulations un peu confuses. Nul doute que ceux-ci soient des vibrions sans vie, épuisés et qu'il faille les comparer à de la levûre de bière vieille, granuleuse, et ceux qui sont en mouvement à de la levûre jeune et active. L'absence de mouvement dans les premiers est une preuve de cette manière de voir.

De chacune de ces sortes de vibrions, il y avait comme des paquets, dont l'enchevêtrement entravait même le déplacement de ceux qui s'agitaient. J'ai remarqué, en outre, que les amas de ces derniers reposaient sur du tartrate non encore dissous, tandis que les paquets granuleux des autres reposaient directement sur le fond de verre de la fiole, comme s'ils avaient détruit le tartrate, leur seul aliment carboné, à la place même où on pouvait les saisir et qu'ils fussent morts sans pouvoir s'éloigner, précisément par cet état d'enchevêtrement dans lequel ils se mettent les uns les autres pendant qu'ils se développent. On voyait aussi des vibrions de même diamètre, mais très-courts, agiles pirouettant, allant et venant, identiques probablement aux plus longs, mais ayant plus de liberté de mouvement, sans doute, à cause de leur peu de longueur.

Tous ces vibrions faisaient complétement défaut dans l'intérieur du liquide.

Je ferai remarquer que l'odeur du dépôt où pullulent les vibrions est un peu putride. Les matières sont donc réductrices et il faut attribuer, sans doute, à cette dernière circonstance la coloration grisâtre du dépôt. Je suppose que les substances employées, quelque pures qu'elles soient, contiennent toujours des traces de fer qui se change en sulfure de fer, sulfure dont la couleur noire modifie la teinte primitivement blanche du dépôt de tartrate et de phosphate non dissous.

Quelle est la nature de ces vibrions? Ainsi que je l'ai déjà dit, je pense qu'ils ne sont autres que des vibrions ordinaires de la putréfaction, rendus très-grêles par les conditions nutritives toutes particulières du milieu fermentescible; en un

mot, je pense que la fermentation qui nous occupe pourrait être appelée la putréfaction du tartrate de chaux, ce dont il serait assez facile de s'assurer, en semant les vibrions de cette fermentation dans des milieux propres à donner les vibrions sous leurs formes habituelles. Je ne l'ai pas encore tenté.

Un mot encore au sujet de ces singuliers êtres. Bon nombre paraissent avoir comme un point brillant, une sorte de tête à une extrémité. Cette illusion est due à ce que l'extrémité de ces vibrions est recourbée, tombante et qu'il en résulte à cette place une plus grande réfringence, ce qui fait croire également qu'il y a plus de largeur vers cette extrémité. On est détrompé facilement, lorsque, par un mouvement du vibrion, la courbure s'aperçoit, qu'ensuite elle se place dans le plan vertical passant par le restant du filament. Dans la première position, le point brillant, *la tête* disparaît. Elle réapparaît dans la seconde position.

La conséquence principale qu'il importe de déduire de l'ensemble des faits précèdents, ne saurait être douteuse et je n'y insisterai pas davantage : les vibrions de la fermentation du tartrate neutre de chaux peuvent vivre et se multiplier hors de toute influence de l'air.

§ V. — Nouvel exemple de vie sans air. — Fermentation du lactate de chaux.

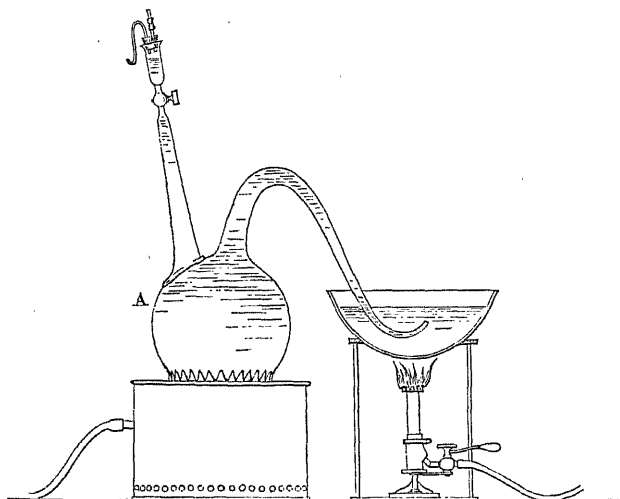
Comme autre exemple de vie sans air, accompagnée de fermentation proprement dite, je citerai en dernier lieu la fermentation du lactate de chaux dans un milieu minéral.

Dans l'expérience décrite au dernier paragraphe, le liquide fermentescible et le levain se sont trouvés au contact de l'air pendant un instant très-court. Quoique des observations précises établissent que la diffusion des gaz oxygène et azote dans un liquide absolument privé d'air, loin d'avoir lieu brusquement, se fait au contraire de proche en proche avec une grande lenteur, j'ai voulu supprimer complétement, au moment de la mise en levain, toute influence possible de l'oxygène.

Prenons un liquide formé de 9 à 10^{lit} d'eau pure et de (1)

Lactate de chaux pur..............	225^{gr}
Phosphate d'ammoniaque............	0,75
» de potasse...............	0,4
Sulfate de magnésie................	0,4
Sulfate d'ammoniaque...............	0,2

Le 26 mars 1875, on en remplit un ballon de la forme ci-jointe, de 6^{lit} de capacité, reposant sur un foyer. La capsule

Fig. 69.

où plonge la tubulure recourbée du ballon, capsule reposant également sur un foyer, est remplie du même liquide. On porte simultanément à l'ébullition le liquide du ballon et celui de la capsule, et l'on maintient l'ébullition pendant plus d'une demi-heure afin de chasser tout l'air dissous. Le liquide

(1) Si la solution de lactate de chaux n'était pas limpide, on pourrait la clarifier par filtration, après addition préalable d'une petite quantité de phosphate d'ammoniaque, qui forme du phosphate de chaux. C'est au liquide filtré et clair qu'on ajoute les phosphates. Ces solutions se troublent très-facilement au contact de l'air par la formation spontanée des bactéries.

sort et rentre à diverses reprises dans le ballon, chassé par la vapeur; mais la portion qui rentre est toujours à l'ébullition.

Le lendemain, après le refroidissement, on transporte l'extrémité du tube abducteur dans un vase plein de mercure, et tout l'appareil est mis à l'étuve à une température de 25° à 30°; puis, après avoir rempli de gaz carbonique le petit entonnoir cylindrique qui surmonte le robinet, on y fait passer, avec les précautions voulues, 10^{cc} d'un liquide composé comme le précédent, mais en fermentation active depuis plusieurs jours à l'abri de l'air et qui s'est rempli de vibrions. On tourne alors la clef du robinet placé au bas de l'entonnoir, en ne laissant dans ce dernier qu'une petite quantité de liquide propre à garantir davantage l'accès de l'air. La mise en levain se trouve ainsi pratiquée sans que le liquide fermentescible, ni le levain, n'aient été en rapport avec l'air extérieur.

La fermentation, qui, d'une manière générale, est plus ou moins lente à se déclarer, suivant l'état de la semence et le nombre de vibrions qu'elle a apportés dans le ballon, a commencé à devenir visible, pour le cas de notre expérience, dès le 29 mars, par de très-petites bulles; c'est seulement à partir du 9 avril qu'on a vu s'élever de quelques points du fond du ballon où se trouvait un dépôt de phosphates terreux, des bulles plus grosses, de plus en plus nombreuses, en même temps que le liquide, très-limpide dans les premiers jours, se troublait par suite de la présence et du mouvement des vibrions, et que du carbonate de chaux cristallisé se formait sur les parois.

Il n'est pas sans intérêt de remarquer que, dans notre mode opératoire, tout conspire à éloigner l'influence de l'air. En effet, le liquide chassé du ballon à l'origine, d'une part, par l'élévation de température de l'étuve qui l'a fait se dilater et de l'autre par les gaz de la fermentation, s'est déversé sur le mercure. Là, exposé à l'air, il se remplit promptement de bactéries, car ce liquide est un des plus propres que je connaisse pour le développement de ces petits organismes (1). Ceux-ci s'opposent à toute

(1) Le naturaliste Cohn, de Breslau, qui a publié en 1872 un bon travail

introduction de l'air si, par impossible, il pouvait en passer entre le mercure et les parois du tube abducteur, car ces bactéries utilisent à leur profit tout l'oxygène qui tend à se dissoudre dans le liquide déversé sur le mercure; on ne saurait craindre, dès lors, la moindre pénétration d'oxygène dans le liquide du ballon.

Faisons observer, sans plus tarder, qu'on peut recourir à cette facile absorption de l'oxygène par les bactéries pour priver d'air le liquide fermentescible avec autant et plus de facilité et de rigueur qu'en ayant recours, comme nous l'avons fait tout à l'heure, à l'ébullition préalable. En effet, le liquide dont il s'agit, à l'état brut, se trouble aux températures de l'été, dans l'intervalle de vingt-quatre heures, par suite de la naissance *spontanée* des bactéries. Or il est facile de prouver que les bactéries absorbent rapidement tout l'oxygène en dissolution (1). Qu'on remplisse entièrement du liquide précité une fiole de quelques litres de capacité (*fig.* 67) dont le tube abducteur également rempli plonge dans le mercure. Si, quarante-huit heures après, à l'aide d'un bain de solution de chlorure de calcium, on fait bouillir le liquide sur le mercure afin d'en retirer tout le gaz qu'il tient en dissolution, ce gaz analysé se montre composé d'un mélange d'azote et de gaz acide carbonique *sans la moindre trace de gaz oxygène.*

---

sur les bactéries, y fait connaître, d'après Mayer, une composition de liquide très-propre à la propagation de ces petits êtres, et qu'il serait bon de comparer à la solution de lactate et de phosphates pour l'utilité relative de ces liquides dans ce genre d'études; voici la formule de Cohn :

Eau distillée	20^{cc}
Phosphate de potasse	$0^{gr},1$
Sulfate de magnésie	$0^{gr},1$
Phosphate tribasique de chaux	$0^{gr},01$
Tartrate d'ammoniaque	$0^{gr},2$

Le liquide présente, dit l'auteur, une faible réaction acide et est complétement limpide.

(1) *Voir* également, sur la rapide absorption de l'oxygène par les bactéries, mon Mémoire de 1872 sur les générations dites spontanées, par exemple la note de la page 78.

Voilà donc un excellent artifice pour priver d'air le liquide fermentescible, puisqu'il suffira d'en remplir complétement un ballon, de porter celui-ci à l'étuve, avec la seule précaution de n'ajouter les vibrions butyriques pour la mise en levain qu'après un intervalle de deux ou trois jours. On peut même attendre davantage; dans ce dernier cas, si le liquide n'a pas été ensemencé spontanément par des germes de vibrions, après avoir été d'abord troublé par les bactéries, il redevient limpide, parce que les bactéries privées de vie, ou tout au moins de la faculté de se déplacer après qu'elles ont absorbé tout l'oxygène en dissolution, tombent inertes au fond du vase. A diverses reprises, j'ai constaté ce fait intéressant qui tend à démontrer que les vibrions butyriques ne peuvent pas être considérés comme une transformation des bactéries, puisque, dans cette dernière hypothèse d'une relation d'origine entre ces deux productions, la fermentation butyrique paraîtrait devoir suivre la naissance des bactéries dans tous les cas.

Je dois signaler encore une observation remarquable bien faite pour montrer l'influence de la différence de composition des milieux pour la propagation des êtres microscopiques. La fermentation particulière que je viens de décrire, commencée le 27 mars, s'est prolongée jusqu'au 10 mai; or la suivante, qui a été faite sur la même quantité de liquide de même composition, s'est achevée en quatre jours. Le 23 avril 1875, on remplit un ballon pareil à celui de la *fig.* 69 et de la même capacité de 6^{lit}, du liquide composé comme il a été dit page 283, mais qu'on avait abandonné pendant cinq jours dans de grands flacons ouverts, ce qui avait provoqué la naissance d'abondantes bactéries. Le cinquième jour, quelques rares bulles partant du fond des vases annonçaient un commencement de fermentation butyrique, fait confirmé par le microscope qui accusait la présence des vibrions de cette fermentation dans le fond du vase, dans l'intérieur du liquide et même dans la couche grouillante des bactéries de la surface. C'est le liquide ainsi préparé qui fut transvasé le 23 avril dans le ballon de 6^{lit} disposé sur le mercure. Dès le soir, une fermentation assez active se manifeste.

Le 24, elle a pris une étonnante rapidité qui dure le 25 et le 26; déjà le 26 au soir elle se ralentit. Le 27, plus d'apparence de fermentation. Ce n'est pas, comme on pourrait le croire, un arrêt subit dû à quelque cause ignorée; la fermentation est réellement achevée, car le 28 une étude du liquide fermenté ne permet pas d'y retrouver la plus petite quantité de lactate de chaux. Si jamais l'industrie avait besoin de se procurer de grandes quantités d'acide butyrique, elle trouverait certainement dans le fait qui précède de précieuses indications pour une facile et abondante préparation de ce produit (1).

Avant d'aller plus loin, faisons une connaissance plus approfondie avec les vibrions des fermentations précédentes.

Le 27 mai 1862, on remplit complétement d'une solution de lactate avec phosphates (2) une fiole d'une capacité de $2^{lit},780$. Aucune semence n'est ajoutée. Le liquide s'est troublé par un développement de bactéries, puis il a fermenté butyriquement. Le 9 juin, la fermentation était devenue assez active pour qu'en vingt-quatre heures on ait pu recueillir, toujours sur le mercure, environ 100^{cc} de gaz. Le 11 juin, activité double évaluée d'après le volume du gaz dégagé en vingt-quatre heures. On examine

---

(1) Comment se rendre compte d'une si grande différence entre les deux fermentations qui viennent de nous occuper? Il faut l'attribuer, vraisemblablement, à la modification apportée dans le milieu par la vie préalable des bactéries ou à la nature des vibrions de la semence. On pourrait encore soutenir que l'action de l'air qui, dans notre seconde manière d'opérer, n'a pas été absolument écartée, puisque aucune précaution n'a été prise au moment du remplissage du ballon pour en éloigner l'influence, est intervenue pour amener une multiplication plus facile des vibrions anaérobies, comme cela aurait eu lieu, toutes choses égales, s'il se fût agi d'une fermentation par la levûre de bière ordinaire.

(2) Cette fois le liquide avait la composition suivante : saturé de lactate de chaux pur à la température de 25° il renfermait, par 100^{cc}, $25^{gr},65$ de lactate $C^6H^5O^5CaO$. On l'amena à une grande limpidité par l'addition préalable de 1^{gr} de phosphate d'ammoniaque, puis filtration.

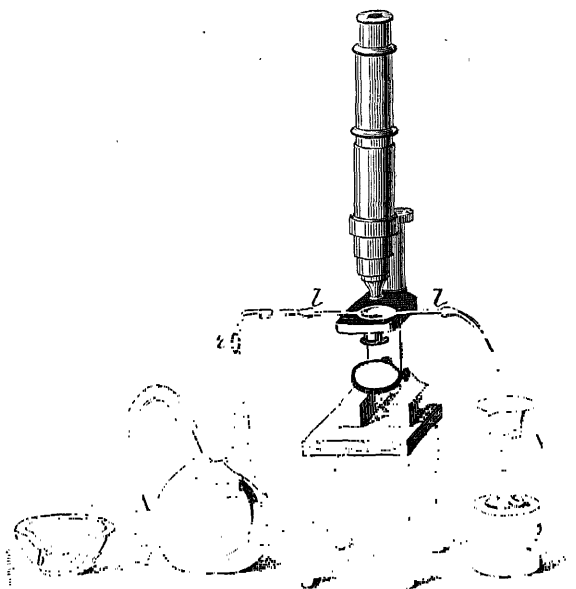
Pour un volume de 8^{lit} de cette solution limpide, saturée, on a employé :

Phosphate d'ammoniaque	2^{gr}
Phosphate de potasse	1^{gr}
Phosphate de magnésie	1^{gr}
Sulfate d'ammoniaque	$0^{gr},5$

une goutte du liquide trouble. Voici la légende du dessin (*fig.* 70), telle que je la trouve dans mes notes d'observa-

Fig. 70.

tions : foule de vibrions très-agiles, assez même pour qu'on ait peine à suivre de l'œil leurs mouvements. J'en vois deux qui forment chaîne et paraissent faire effort pour se détacher. Évidemment un fil muqueux, gélatiniforme, invisible, les réunit,

Fig. 71.

car voilà qu'à la suite de leurs efforts ils ne se touchent plus. Cependant ils ne sont pas disjoints ; l'un est entraîné dans tous les mouvements de l'autre. Les voilà séparés, et ils s'éloignent chacun de son côté, bien plus agiles et rapides qu'auparavant.

La méthode suivante est une des meilleures qu'on puisse adopter pour l'examen au microscope de ces vibrions hors de tout contact avec l'air. Lorsqu'une fermentation butyrique est bien en train depuis plusieurs jours dans un ballon A (*fig.* 71), on joint celui-ci par un tube de caoutchouc à une de ces lentilles à faces aplaties décrites page 154 (*fig.* 31), et disposée sur le porte-objet d'un microscope (*fig.* 71). Au moment de l'observation on ferme, sous le mercure, *en b*, l'extrémité de la tubulure du ballon qui a été étirée et recourbée pour servir au dégagement des gaz. Une pression s'exerce bientôt à l'intérieur du ballon, de telle sorte que, lorsqu'on ouvre le robinet *r*, le liquide est chassé dans la lentille *ll* qui se remplit complétement, et va se déverser dans le verre V. On peut donc, par cet artifice, observer les vibrions sans qu'ils aient le moindre contact avec l'air et comme si la lentille objective du microscope était plongée au centre même du ballon. Les mouvements et la multiplication par fissiparité des vibrions se voient alors dans toute leur beauté. C'est un spectacle des plus attachants. Les mouvements ne disparaissent pas par un abaissement subit, même considérable de température, de 15° par exemple: ils ne sont que ralentis; toutefois, il est mieux de les suivre aux températures les plus favorables de la fermentation, dans l'étuve même où se trouvent les vases en expérience, de 25° à 35°.

Cela posé, poursuivons l'exposé de la fermentation qui nous occupait tout à l'heure. Le 17 juin, la fermentation donne trois fois plus de gaz que le 11. Le 11, le résidu d'hydrogène, après l'absorption par la potasse, était de 72,6 pour 100; aujourd'hui il est de 49,2 pour 100. Examinons de nouveau le liquide trouble au microscope. En voici le dessin et la légende : très-beau spectacle; tous les vibrions se meuvent ou rampent en ondulant, ils sont plus gros et plus longs que le 11; beaucoup sont en longues chaînes d'articles flexueux et mobiles sur leurs articulations, visiblement moins agiles quand ils sont plus longs ou qu'il y a plus d'articles à la chaîne. Dans ces deux cas, les mouvements sont balancés, lents et doux. Cette description s'applique à des vibrions en baguettes cylindriques, homogènes. Mais il y en a

d'autres, ceux-ci rarement par chaîne, qui ont un corpuscule brillant, c'est-à-dire plus réfringent que le restant de l'article, à

Fig. 72.

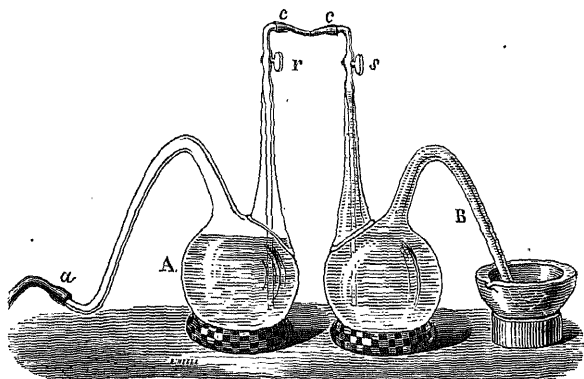
une de leurs extrémités. Tantôt l'extrémité qui s'avance a le corpuscule en tête, tantôt en queue. Lês longs articles de la première sorte atteignent de 10 à 30 et jusqu'à 45 millièmes de millimètre. Le diamètre est de $1\frac{1}{2}$ à 2, très-rarement 3 millièmes de millimètre.

Le 28 juin, la fermentation est entièrement achevée. Plus trace de gaz; plus du tout de lactate en dissolution. Tous les infusoires tombent sans mouvement au fond de la fiole. Le liquide s'éclaircit peu à peu et complétement les jours suivants.

Ces infusoires sans mouvements, tombant inertes au fond du vase de fermentation, parce que le lactate qui est leur aliment carboné fait maintenant complétement défaut, sont-ils morts et incapables de réviviscence (1)? L'expérience suivante porte à penser que la vie ne les a pas abandonnés et qu'ils se comportent comme la levûre de bière qui, après qu'elle a décomposé tout le sucre d'un liquide fermentescible, est prête à se rajeunir et à se multiplier dans un nouveau milieu sucré. Le 22 avril 1875, on abandonne à l'étuve à 25° une fermentation

(1) L'aliment carboné, dis-je, leur fait défaut et de là l'absence de vie active, de nutrition et de multiplication. Pourtant le liquide renferme un sel à acide organique carboné au même titre que le lactate. C'est le butyrate de chaux. Pourquoi ce sel ne fait-il pas vivre à son tour ces vibrions? L'explication de ce mystère me paraît facile. L'acide lactique fournit de la chaleur par sa décomposition, l'acide butyrique ne saurait en donner. Or, les vibrions ont besoin de chaleur pour suffire au travail chimique de leur nutrition.

achevée de lactate de chaux. Le tube abducteur du ballon A où elle s'est accomplie (*fig.* 73) n'est jamais sorti du mercure.

Fig. 73.

Chaque jour on observe le liquide et on le voit progressivement s'éclaircir; on attend ainsi quinze jours. Alors on remplit un autre ballon pareil B de la solution de lactate qu'on porta à l'ébullition, autant pour chasser l'air qu'elle tenait en dissolution que pour tuer les germes de vibrions que le liquide pouvait contenir. Après le refroidissement du ballon B, on mit en communication les deux ballons sans contact avec l'air commun (1), après avoir un peu agité le ballon A pour soulever le dépôt du fond, puis on exerça une pression de gaz acide carbonique à l'entrée du tube abducteur de ce dernier ballon en *a*. De cette manière, et après avoir ouvert les robinets *r* et *s*, le dépôt du fond du ballon A fut lancé dans le ballon B, lequel se trouva par suite ensemencé avec le dépôt d'une fermentation achevée depuis quinze jours. Or, dès le surlendemain, le ballon B a commencé à donner des indices de fermentation. En conséquence le dépôt de vibrions d'une fermentation butyrique achevée con-

(1) Pour cela faire, il suffit de remplir les extrémités recourbées des tubulures droites des ballons, ainsi que le tube de caoutchouc *cc* d'eau bouillante désaérée.

serve, du moins pour un temps, la faculté d'exciter la fermentation. Il fournit une levûre butyrique capable d'être régénérée et d'agir dans un nouveau milieu fermentescible approprié.

Tout lecteur qui aura suivi avec attention les faits que nous avons exposés ne saurait, ce me semble, émettre le moindre doute au sujet de la multiplication possible des vibrions de la fermentation du lactate de chaux hors du contact de l'oxygène de l'air.

Si des preuves nouvelles de cette importante proposition étaient nécessaires, on les trouverait dans les observations suivantes, desquelles on peut inférer que l'oxygène de l'air est capable d'arrêter subitement une fermentation par vibrions butyriques et tout mouvement dans ces petits êtres, circonstance bien propre à nous montrer une fois de plus que cette nature d'organismes ne saurait avoir besoin d'air pour vivre. Le 7 mai 1862, on place à l'étuve une fiole de la capacité de $2^{lit},580$, pleine de la solution de lactate de chaux avec phosphates, qu'on ensemence le 9 avec deux gouttes d'un liquide en fermentation butyrique : la fermentation se déclare les jours suivants. Le 16, elle est continue, mais faible. Le 18, elle est active. Le 30, elle est très-active. Le 1^{er}, elle fournit par heure 35^{cc} de gaz, contenant 10 pour 100 de gaz hydrogène. Le 2, j'étudie l'action de l'air sur les vibrions de cette fermentation. A cet effet, je coupe le tube abducteur au niveau du point où il est soudé à la fiole, puis, avec une pipette de 50^{cc}, je retire un égal volume de liquide, lequel est naturellement remplacé par de l'air. Alors je renverse la fiole sur le mercure, et je l'agite toutes les dix minutes pendant plus d'une heure. Voulant m'assurer tout d'abord si du gaz oxygène a été absorbé, je joins sous le mercure, au bec de la fiole, à l'aide d'un tube fin de caoutchouc plein d'eau, une petite fiole dont le col a été étiré et également pleine d'eau, puis je relève la grande fiole surmontée de la petite. Une pince de Mohr, qui ferme le tube de caoutchouc et qu'on ouvre alors, laisse écouler dans la grande fiole l'eau que contient la petite, pendant que le gaz passe, au contraire, de la grande fiole dans la petite. On fait aussitôt l'analyse du gaz et l'on constate que,

abstraction faite de l'acide carbonique et de l'hydrogène, il ne renferme plus que 14,2 pour 100 d'oxygène, ce qui correspond à une absorption de $6^{cc},6$ ou de $3^{cc},3$ d'oxygène pour les 50^{cc} d'air employé. Enfin on rétablit au moyen d'un tube de caoutchouc le tube abducteur de la grande fiole, après avoir reconnu par l'examen au microscope que les mouvements des vibrions sont très-affaiblis. La fermentation a été diminuée sans être nulle, sans doute parce que toutes les parties du liquide n'ont pas été mises en rapport avec l'oxygène de l'air, malgré l'agitation prolongée qu'on avait fait subir à la fiole après l'introduction de l'air. Quoi qu'il en soit, le sens du phénomène n'est pas douteux. Afin de mieux m'assurer toutefois de l'effet de l'air sur les vibrions, j'ai rempli deux tubes d'essai, à moitié de leur capacité, avec le liquide fermentant d'une autre fermentation également arrivée à son maximum d'intensité : dans l'un d'eux, j'ai fait passer un courant d'air, dans l'autre du gaz acide carbonique. Au bout d'une demi-heure, dans le tube à air, tous les vibrions étaient morts, du moins sans mouvement, et la fermentation n'y reprit point. Dans l'autre, après trois heures d'action du gaz carbonique, les vibrions étaient fort agiles, et la fermentation continuait.

Une observation des plus simples prouve l'influence *mortelle* de l'air atmosphérique sur les vibrions. Par le mode d'examen au microscope, à l'aide de la lentille décrite et figurée page 288, nous avons reconnu combien étaient remarquables et faciles à mettre en évidence les mouvements des vibrions quand on les prive absolument du contact de l'air. Répétons cette observation, en même temps que, sur le même liquide, on fera l'examen microscopique à la manière ordinaire, c'est-à-dire en déposant une goutte du liquide sur une lame de verre qu'on recouvre ensuite d'une petite lamelle, toutes manipulations qui placent forcément la goutte liquide en contact avec l'air, ne fût-ce qu'un instant très-court. On sera aussitôt surpris de la grande différence d'intensité des mouvements des vibrions observés dans la lentille de verre et sous la lamelle. Bien plus, sous la lamelle on voit promptement cesser tout mouve-

ment sur les bords, là où la goutte de liquide subit l'action de l'air, tandis que les mouvements se conservent au centre d'autant plus longtemps qu'il y a plus de vibrions pour absorber une plus grande quantité d'air sur les bords. Il ne faut même pas une grande habitude de ces observations pour reconnaître manifestement que dans les premiers instants, après que la lamelle a été déposée et que la totalité de la goutte vient d'être touchée plus ou moins dans toutes ses parties par l'air atmosphérique, les vibrions sont tous languissants, certainement malades (je ne vois pas d'autre expression pour rendre ce qu'on observe), et que, peu à peu, ils reprennent plus d'agilité vers le centre, au fur et à mesure qu'ils rentrent dans une portion du milieu mieux dépouillée d'oxygène.

Rien de plus curieux qu'une observation corrélative et inverse de celle-ci, à laquelle donnent lieu les bactéries aérobies ordinaires. Place-t-on une goutte de liquide pleine de ces bactéries sur le porte-objet du microscope, on ne tarde pas à voir toutes les bactéries sans mouvement dans les régions du centre de la lamelle, où l'oxygène disparaît promptement par suite de la vie même des bactéries qui s'y trouvent. Au contraire, le mouvement est extraordinaire sur tout le pourtour de la lamelle, parce que l'air y arrive constamment. Malgré la mort prompte des bactéries au centre de la lamelle, on voit la vie se prolonger dans cette région si le hasard y a enfermé une bulle d'air. Tout autour de cette bulle viennent se grouper en une couronne épaisse et grouillante une foule de bactéries qui tombent sans vie apparente et se dispersent sous l'action des mouvements du liquide, dès que tout l'oxygène de la bulle a été absorbé (1).

Qu'on me permette d'ajouter ici, à un point de vue purement historique, que ce sont les deux observations dont je viens de

---

(1) Je trouve ce fait, que j'ai publié depuis 1863, confirmé dans le travail de H. Hoffmann de 1869, intitulé : *Mémoire sur les bactéries*, et qui a paru en français, t. XI de la 5e série des *Annales des Sciences naturelles*. A ce propos, je citerai une observation encore inédite. Les bactéries aérobies perdent tout mouvement dans le gaz acide carbonique où on les plonge tout à coup ; mais, comme si elles n'étaient qu'anesthésiées, elles le reprennent ensuite si on les remet à l'air.

parler et que j'eus l'occasion de faire un jour successivement, en 1861, sur des vibrions et des bactéries, qui ont fait surgir tout à coup dans mon esprit, et l'idée de la possibilité de la vie sans air, et l'idée que les vibrions que je rencontrais si souvent dans mes fermentations lactiques devaient être le véritable ferment butyrique.

Une question intéressante mérite de nous retenir un instant au sujet des deux apparences sous lesquelles les vibrions se présentent dans les fermentations butyriques. Quelle est la signification de ceux de ces vibrions qui ont des corpuscules réfringents, de forme générale lenticulaire, tels que nous en offre la *fig.* 72, page 290.

Je suis très-fondé à croire que ces corpuscules répondent à un mode particulier de reproduction des vibrions, soit des vibrions anaérobies qui nous occupent, soit des vibrions aérobies ordinaires qui donnent lieu également aux corpuscules dont il s'agit.

Dans cette manière de voir, après un certain nombre de générations par fissiparité et sous l'influence des variations dans la composition du milieu qui change sans cesse, tant par la fermentation que par la vie même des vibrions, des kystes, qui ne seraient autres que les corpuscules réfringents, se formeraient en divers points de leur longueur. De cette sorte d'œuf sortirait ultérieurement un nouveau vibrion-baguette prêt à se reproduire par fissiparité pendant un certain temps pour s'enkyster plus tard de nouveau. Diverses observations me portent à croire que, dans leur forme ordinaire de petits boudins mous et pleins, les vibrions périssent par la dessiccation, mais que sous la forme de corpuscules ou de kystes ils résistent, peuvent former poussière et être emportés par les vents. Toute la matière qui entoure le corpuscule ou kyste paraît inutile à la conservation du germe, lorsque le kyste est constitué, car toute cette matière se résorbe peu à peu et le kyste reste seul. Ces kystes forment alors des amas de corpuscules où l'œil le plus exercé ne reconnaît rien d'organisé, rien qui rappelle les vibrions qui

leur ont donné naissance. Ces petits corps sont pourtant doués d'une vie latente et n'attendent que des conditions favorables pour former des vibrions-baguettes.

Je ne suis pas en mesure de donner de ces opinions des preuves plausibles. Elles me sont suggérées par des expériences, mais dont aucune n'est encore absolument décisive en leur faveur. Je citerai l'une de mes observations à ce sujet.

Dans une fermentation de glycérine au sein d'un milieu minéral (j'ai reconnu que la glycérine fermentait par l'action des vibrions butyriques), après avoir constaté la présence, pour ainsi dire exclusive, de vibrions lenticulaires, à corpuscules réfringents, j'ai vu la fermentation qui, par une cause inconnue, s'était très-ralentie, reprendre tout à coup, et cette fois sous l'action de vibrions ordinaires. Les lentilles à points brillants avaient fait place à ces derniers; des premières on ne voyait plus qu'un petit nombre, réduites pour ainsi dire à leur seul corpuscule réfringent, car le corps du vibrion accompagnant le corpuscule s'était résorbé.

Une autre observation plus en harmonie encore avec l'hypothèse dont il s'agit est relatée dans mon ouvrage sur la *Maladie des vers à soie*, t. I[er], page 256. J'y démontre que de la poussière de vibrions desséchés, contenant une foule de ces corpuscules réfringents, donne lieu lorsqu'elle est placée dans l'eau, après un intervalle de quelques heures seulement, à de gros vibrions, en cylindres pleins, adultes, sans points brillants, et l'on ne voit dans l'eau aucun passage de vibrions plus petits à ces vibrions plus gros, comme si ces derniers étaient sortis tout formés des corpuscules réfringents, ainsi qu'on voit les kolpodes sortir adultes et volumineux de la poussière de leurs kystes. Cette observation est, pour le dire en passant, une des meilleures preuves qu'on puisse alléguer de la non-génération spontanée des vibrions ou des bactéries, car il est vraisemblable que les bactéries se comportent de la même manière. Sans doute, on ne saurait dire d'une poussière punctiforme qu'on voit sous le microscope : ceci est un germe de vibrion; ceci est un germe de bactérie. Mais comment douter que les vibrions sortent d'un œuf, d'un

kyste ou d'un germe déterminé, lorsque, après avoir déposé dans une eau limpide de ces poussières punctiformes indéterminées on voit apparaître tout à coup, après une heure ou deux seulement d'attente, un vibrion adulte qui traverse le champ du microscope, sans le moindre passage entre le point apercevable et ce vibrion?

Les différences dans l'aspect et la nature des vibrions avec leur âge plus ou moins avancé, ou sous l'influence des conditions de milieu où ils se propagent, n'apporteraient-elles pas des changements correspondants dans le développement de la fermentation et la nature de ses produits? Je suis porté à le penser, si j'en juge par les variations dans les proportions des gaz hydrogène et acide carbonique dans les fermentations butyriques. Bien plus, l'hydrogène n'est même pas un produit constant de ces fermentations. J'ai rencontré des fermentations butyriques de lactate de chaux qui ne fournirent pas la plus petite quantité d'hydrogène, uniquement de l'acide carbonique. La *fig.* 74

Fig. 74.

représente les vibrions que j'ai observés dans une de ces fermentations. Ils n'offrent rien de particulier.

L'alcool butylique est, d'après mes observations, un produit ordinaire, quoique variable et nullement nécessaire cependant de ces fermentations. On pourrait penser, puisque l'alcool butylique peut prendre naissance et l'hydrogène faire défaut, que la proportion du premier de ces produits atteint son maximum quand le second fait défaut. Il n'en est rien et même dans les rares fermentations que j'ai rencontrées où l'hydrogène faisait défaut, il n'y avait pas eu formation d'alcool butylique.

De l'ensemble des faits exposés dans ce paragraphe nous pouvons conclure en toute certitude, d'une part, que, dans les cas de fermentation butyrique, les vibrions qui y pullulent et en sont le ferment vivent sans air, sans oxygène libre; d'autre part, que la présence de l'oxygène gazeux supprime leurs mouvements et leur activité.

Est-ce à dire que la présence de faibles quantités d'air mises au contact d'un liquide en fermentation butyrique empêcherait celle-ci d'avoir lieu, que même elle la ralentirait? Je n'ai pas encore fait d'expériences directes à cet égard. Je ne serais pas surpris que, loin de nuire, l'air pût favoriser la propagation des vibrions et activer la fermentation. C'est déjà ce qui arrive pour la levûre de bière. Mais comment donc concilier cette hypothèse, si elle se trouvait fondée, avec le fait que nous venons de rappeler au sujet du danger de mettre au contact de l'air les vibrions butyriques? C'est qu'il se pourrait que la vie sans air résultât d'une habitude, et la mort par l'air d'un brusque changement dans les conditions de l'existence des vibrions. On connaît cette remarquable expérience : dans un bocal de verre de 1^{lit} ou 2 de capacité on introduit un oiseau, puis on ferme le bocal; après un certain temps l'animal montre tous les signes du plus profond malaise et de l'asphyxie. Longtemps avant qu'il ne meure, on fait pénétrer dans le bocal un autre oiseau pareil, de même taille : la mort de celui-ci est instantanée, tandis que la vie du premier peut se prolonger au contraire longtemps encore, et même il est facile, en le retirant, de le ramener complétement à la santé. Comment se refuser à admettre qu'il y ait eu adaptation de l'organisme à ce milieu progressivement délétère? Il se pourrait également que les vibrions anaérobies d'une fermentation butyrique, qui naissent et se multiplient absolument sans gaz oxygène libre, périssent aussitôt, lorsqu'ils sont placés tout à coup hors de leur milieu privé d'air; mais qu'il en serait autrement si de petites quantités d'air leur avaient été fournies progressivement.

Nous sommes bien obligés d'admettre que des vibrions pullulent fréquemment dans des liquides exposés à l'air et qu'ils

utilisent l'oxygène de cet air dont ils ne pourraient subitement se passer. Faut-il croire que ces vibrions diffèrent absolument de ceux des fermentations butyriques ? Il serait peut-être plus naturel d'admettre qu'il y a adaptation à la vie avec air pour les uns et pour les autres adaptation à la vie sans air ; chacune des sortes périrait par le passage brusque de sa condition habituelle à l'autre, mais, par une progression dans le changement, ils pourraient se modifier les uns dans les autres (1).

Nous savons qu'en ce qui concerne les levûres alcooliques, quoiqu'elles puissent vivre sans air à la rigueur, leur propagation est singulièrement favorisée par la présence de petites quantités d'air, et j'ai lieu de penser, d'après quelques expériences inédites, que ce n'est pas impunément qu'on les exposerait tout à coup, sortant des conditions de leur vie sans air, à l'influence de grandes quantités d'oxygène.

N'oublions pas toutefois que les torulas aérobies et les levûres anaérobies nous ont offert l'exemple d'organismes d'apparences identiques et que nous n'avons pu découvrir entre eux des liens d'origine. Nous avons dû les croire d'espèces distinctes. Peut-être existe-t-il également des vibrions aérobies et des vibrions anaérobies, sans passage possible des uns aux autres.

On a agité la question de savoir si les vibrions, notamment ceux que j'ai reconnus être le ferment de la fermentation butyrique et de beaucoup d'autres fermentations, étaient de nature animale ou végétale. M. Ch. Robin attache même à la solution qu'elle comporte une importance telle qu'il s'exprime en ces termes (2) :

« La détermination de la nature animale ou végétale, soit des êtres entiers, soit de leurs éléments anatomiques végétatifs ou reproducteurs, toujours représentés par une ou plusieurs cel-

---

(1) On pourrait facilement lever ces doutes et résoudre ces questions par des expériences directes.

(2) Robin, *Sur la nature des fermentations*, etc. (*Journal de l'Anatomie et de la Physiologie*, juillet et août, 1875, p. 386).

lules, est possible aujourd'hui et déjà depuis plus d'un quart de siècle. Elle l'est à un assez grand degré de précision, autant expérimentalement que théoriquement, pour que ceux qui s'occupent de sciences organiques considèrent dans toute observation et expérience comme indispensable de préciser, avant tout, si l'objet qu'ils étudient est de nature animale ou végétale, adulte ou non. Ne pas le faire est pour eux aussi grave que le serait pour le chimiste de laisser indécise la question de savoir si c'est de l'azote ou de l'hydrogène, de l'urée ou de la stéarine, qu'il retire d'un tissu ou dont il suit les combinaisons dans telles ou telles opérations. Or, presque tous ceux qui s'occupent des fermentations proprement dites et des putréfactions ne tiennent pas compte des données précédentes. ...Parmi les observateurs auxquels je fais allusion se trouve même M. Pasteur, qui, jusque dans ses Communications les plus récentes, ne se prononce pas d'une manière formelle sur la nature animale ou végétale de plusieurs des ferments qu'il a observés, à l'exception bien entendu de ceux qui rentrent dans le groupe cryptogamique dit des *torulacées*. Toutefois, divers passages semblent bien montrer qu'il considère les cryptogames dits *bactéries*, et ceux appelés *vibrions*, comme étant des animaux (voir *Bulletin de l'Académie de Médecine*; Paris, 1875, p. 249, 251, 256 surtout, 266, 267, 289 et 290). Ils seraient fort différents même, au moins physiologiquement, les premiers étant *aérobies*, tandis que les vibrions seraient *anaérobies*, c'est-à-dire, n'auraient pas besoin d'air pour vivre et seraient tués par l'oxygène, s'il venait à se dissoudre dans le liquide en trop grande quantité. »

Je ne partage pas la manière de voir de mon savant confrère; c'est se livrer à une grande illusion, à mon sens, que de penser « qu'il est tout aussi grave de ne pas se prononcer sur la nature animale ou végétale d'un ferment que de confondre l'azote avec l'hydrogène, l'urée avec la stéarine ». L'importance des solutions des questions controversées dépend souvent du point de vue sous lequel on envisage celles-ci. En ce qui concerne le résultat

de mes travaux, deux propositions me préoccupaient exclusivement : 1° Dans toute fermentation proprement dite, le ferment est-il un être organisé ? 2° Cet être organisé peut-il vivre sans air? Qu'importe aux investigations sur ces deux problèmes la question de la nature animale ou végétale du ferment, de l'être organisé? Quand j'ai étudié, par exemple, la fermentation butyrique, j'ai cherché à établir ces deux points fondamentaux : 1° *le ferment butyrique est un vibrion; 2° ce vibrion peut se passer d'air pour vivre, et il s'en passe réellement quand il est agent de la fermentation butyrique.* Je ne tenais en aucune façon à me prononcer sur la nature animale ou végétale de ce vibrion, et aujourd'hui encore c'est pour moi affaire de sentiment plus que de conviction de prendre un vibrion pour un animal plutôt que pour une plante.

Pour M. Robin, il n'y aurait aucune difficulté d'assigner la limite des deux règnes. Voici comment il s'exprime :

« Toutes les variétés de cellulose sont en effet insolubles dans l'ammoniaque, ainsi que les éléments anatomiques reproducteurs des plantes, soit mâles ou femelles. Quelle que soit, d'autre part, celle des phases évolutives à laquelle se trouvent les éléments reproduisant un nouvel individu, l'emploi de cet agent froid ou porté à l'ébullition les laisse absolument intacts sous les yeux de l'observateur, sauf plus de transparence de leur contenu, qui pourtant n'est pas totalement dissous. Tout végétal microscopique ou autre, tout mycélium, toute spore conserve alors intégralement son caractère de forme, de volume, et ses dispositions structurales, tandis que l'inverse a lieu de la manière la plus caractéristique pour les animaux microscopiques, les œufs et les embryons microscopiques de divers animaux.... »

Je suis fort aise d'apprendre que l'emploi d'une goutte d'ammoniaque permet de se prononcer avec cette sûreté sur la nature de l'être microscopique le plus infime; mais les choses sont-elles aussi absolues que le veut M. Robin? Lui-même fait observer que les spermatozoïdes, qui sont des organites animaux, ne se dissolvent pas dans l'ammoniaque, qu'ils y ont seulement pâli. S'il suffisait d'une différence d'action de certains réactifs, de

l'ammoniaque, par exemple, pour décider de la limite des deux règnes animal et végétal, ne pourrait-on pas soutenir qu'il y a une différence profonde et de nature propre entre les moisissures et les bactéries, puisqu'une petite quantité d'acide présent dans un liquide nutritif favorise la naissance et la propagation des moisissures, tandis qu'elle peut empêcher la vie des bactéries et des vibrions?

Quoiqu'il soit bien connu que le mouvement ne soit pas exclusivement spécial aux animaux, j'ai toujours été porté à considérer les vibrions comme des animaux, à cause des caractères propres de leurs mouvements. Quelle différence avec ceux des diatomées, par exemple? Le vibrion rencontre-t-il un obstacle, il le tourne, ou après s'être assuré en quelque sorte, par de visibles efforts, qu'il ne peut le franchir, il revient sur ses pas. Les kolpodes, infusoires animaux non douteux, ne se comportent pas autrement. On peut dire, il est vrai, que les zoospores de certains cryptogames montrent des allures semblables; mais ces zoospores ne sont-ils pas de nature animale, au même titre que les spermatozoïdes? En ce qui concerne les bactéries, lorsque, comme je le rappelais précédemment, on les voit entourer une bulle d'air dans un liquide pour prolonger leur vie, parce que l'oxygène leur fait ailleurs défaut, comment se défendre de l'idée qu'il y a chez elles un instinct pour la vie, du même ordre que celui qui nous frappe chez les animaux? M. Robin me paraît avoir tort de vouloir que la question de la limite des règnes animal et végétal puisse recevoir une solution mathématique. Mais, je le répète encore, cette solution, quelle qu'elle soit, n'intéresse pas sérieusement les questions qui ont fait l'objet de mes études.

N'est-ce pas également une difficulté oiseuse à beaucoup d'égards que soulève M. Robin, lorsqu'il ne veut pas qu'on emploie le mot *germe*, si l'on ne peut pas spécifier que le germe est de nature végétale ou animale; mais dans toutes les questions que j'ai eu à traiter, qu'il s'agisse de fermentation ou de générations spontanées, le mot *germe* voulait dire surtout *origine de vie*. Si Liebig, par exemple, disait d'une matière al-

buminoïde qu'elle donne naissance au ferment, ma contradiction pouvait-elle avoir plus de clarté que lorsque je lui répondais : Non, le ferment est un être organisé dont le germe est présent, et la matière albuminoïde, si elle intervient, ne fait que nourrir le germe et ses générations successives.

Dans mon Mémoire de 1862, sur les générations dites *spontanées*, n'aurais-je pas eu le plus grand tort de vouloir assigner des noms d'espèces aux organismes microscopiques que je rencontrais dans mes observations? Outre que cela m'eût été très-difficile de le faire, tant il y a, aujourd'hui encore, de confusion dans les dénominations de ces petits êtres, mon travail aurait perdu en clarté; tout au moins je me serais éloigné de son but principal, qui était la constatation de la présence ou de l'absence de la vie prise à un point de vue général, et nullement la manifestation d'une vie particulière dans telle ou telle espèce animale ou végétale. Aussi ai-je eu recours systématiquement aux dénominations les plus vagues, telles que celles de *mucors*, de *torulas*, de *bactéries*, *vibrions*.... Ce n'est point là de l'arbitraire; l'arbitraire est bien plus dans l'adoption de règles définies de nomenclature, appliquées à des organismes mal connus qui ne diffèrent ou ne se ressemblent que par des caractères dont on ignore la signification véritable. Qu'on lise, à ce propos, les nomenclatures, nombreuses et diverses, qui ont été imaginées dans ces dernières années pour les espèces des genres bactéries et vibrions dans les travaux de Cohn, de H. Hoffmann, de Hallier, de Billroth... Il y règne une grande confusion. Je suis loin toutefois de placer ces divers travaux sur la même ligne, sous le rapport de leur rigueur respective.

M. Robin est dans la vérité, au contraire, lorsqu'il reconnaît qu'il est impossible de soutenir aujourd'hui, comme il l'a fait autrefois, « que la fermentation est un phénomène extérieur, se passant hors des cellules cryptogamiques, un phénomène de contact. C'est bien, ajoute-t-il, un acte intérieur et moléculaire se produisant dans l'intimité de la substance de chaque cellule. » Le jour où j'ai prouvé que tous les ferments organisés proprement dits peuvent naître et se mul-

tiplier, par l'apport voulu ou fortuit de leurs germes, dans un milieu minéral exempt de matières organiques et azotées autres que l'ammoniaque et où la matière fermentescible est seule propre à fournir au ferment tout le carbone qui entrera dans sa constitution, les théories de Liebig, comme celle de Berzélius soutenue jadis par M. Robin, ont dû céder la place à d'autres plus en harmonie avec les faits. Un jour viendra, j'en ai l'espoir, où M. Robin fera également amende honorable au sujet de la doctrine de la génération spontanée qu'il continue d'affirmer sans preuves directes à la fin de l'article auquel je réponds.

J'ai consacré la plus grande partie du présent Chapitre à établir avec toute la rigueur possible le fait physiologique si important de la possibilité de la vie sans air, et sa corrélation avec les phénomènes des fermentations proprement dites, c'est-à-dire de celles qui sont dues à la présence d'organismes cellulaires microscopiques. C'est le principal fondement de la théorie nouvelle que je propose pour l'explication de ces phénomènes. Les détails dans lesquels je suis entré étaient indispensables, tant par la nouveauté du sujet que par la nécessité de combattre les critiques des deux naturalistes allemands, les D[rs] Oscar Brefeld et Traube, dont les travaux avaient jeté quelque doute sur l'exactitude des faits sur lesquels j'appuie les propositions précédentes.

Je suis heureux d'ajouter qu'au moment même où je revois les *épreuves* de ce Chapitre, je reçois de M. Brefeld une brochure datée de Berlin (janvier 1876), dans laquelle, après avoir exposé de nouvelles recherches expérimentales, il déclare avec une loyale franchise que le D[r] Traube et lui étaient tous deux dans l'erreur. La vie sans air est maintenant une proposition qu'il accepte comme parfaitement démontrée. Il en a été témoin dans le *mucor racemosus*, et il l'a vérifié également pour la levûre de bière. « Si, dit-il, d'après les résultats de mes recherches antérieures, faites avec toute la rigueur possible, j'avais été porté à considérer comme inexactes les assertions de Pasteur et

à les combattre expressément, je n'hésite pas maintenant à les reconnaître vraies et à proclamer le service qu'il a rendu en étant le premier à indiquer exactement le rapport des choses dans le phénomène de la fermentation.» Dans ses nouvelles recherches, le Dr Brefeld s'est servi de la méthode que j'avais employée depuis longtemps pour démontrer la vie et la multiplication des vibrions butyriques, hors de toute présence de l'air, de la méthode des cultures dans les milieux minéraux associés à la substance fermentescible. Je ne m'arrête pas à d'autres critiques secondaires du Dr Brefeld. La lecture du présent Ouvrage lui montrera, je l'espère, qu'elles ne sont pas davantage fondées.

S'efforcer de se convaincre soi-même de la vérité qu'on a entrevue est le premier pas vers le progrès; persuader les autres est le second. Il y en a un troisième, peut-être moins utile, mais fort enviable néanmoins, qui est de convaincre ses adversaires. Aussi ai-je éprouvé une grande satisfaction à la nouvelle que j'avais ramené à ma manière de voir un observateur d'une rare habileté, dans un sujet qui intéresse au plus haut degré la physiologie cellulaire.

§ VI. — Réponse aux observations critiques de Liebig, publiées en 1870 (1).

Dans le Mémoire que j'ai publié, en 1860, sur la fermentation alcoolique et dans plusieurs travaux ultérieurs, j'ai été conduit à envisager les causes de ce phénomène si remarquable autrement que ne l'avait fait Liebig. Les opinions de Mitscherlich et de Berzelius ne soutenaient pas davantage la discussion en présence des faits nouveaux que j'avais observés. Depuis lors, j'étais persuadé que le célèbre chimiste de Munich s'était rendu à ma manière de voir, car il garda longtemps le silence sur ce sujet, qui avait fait jusque-là l'objet de ses préoccupations

(1) Liebig, *Sur la fermentation et la source de la force musculaire* (*Annales de Chimie et de Physique*, 4e série, t. XXIII, p. 5; 1870).

constantes, comme tous ses ouvrages en témoignent, lorsque parut tout à coup dans les *Annales de Chimie et de Physique* un long Mémoire qui était la reproduction d'une lecture faite par lui devant l'Académie de Bavière en 1868 et 1869. Liebig y soutenait de nouveau, non toutefois sans quelques modifications, les vues émises dans ses publications antérieures, et contestait l'exactitude des principaux faits énoncés dans mon Mémoire de 1860 et qui avaient servi de base à mon argumentation contre sa théorie.

« J'avais admis, dit-il, que la résolution de la matière fermentescible en composés plus simples devait être ramenée à un phénomène de décomposition ayant lieu dans le ferment, et que l'action de ce même ferment sur la matière fermentescible continuait ou cessait selon la prolongation ou la cessation de l'altération produite dans le ferment. Le changement moléculaire dans le sucre serait, en conséquence, amené par la destruction ou la modification d'une ou de plusieurs parties constituantes du ferment, et n'aurait lieu qu'au contact des deux matières. M. Pasteur envisage la fermentation de la manière suivante : L'acte chimique de la fermentation est essentiellement un phénomène corrélatif d'un acte vital, commençant et s'arrêtant avec ce dernier. Il pense qu'il n'y a jamais fermentation alcoolique sans qu'il y ait simultanément organisation, développement, multiplication des globules, ou vie poursuivie, continuée de globules déjà formés. L'opinion que la décomposition du sucre pendant la fermentation consiste dans le développement des cellules de la levûre est en contradiction avec le fait que la levûre détermine la fermentation d'une solution de sucre pur ; la levûre consiste en majeure partie en une substance riche en azote et renfermant du soufre ; elle renferme, en outre, une quantité notable de phosphates, et il a été difficile de comprendre comment, en l'absence de ces éléments dans la solution de sucre pur en fermentation, le nombre des cellules a pu augmenter. »

Contrairement à ce que pense Liebig, l'opinion que la décomposition du sucre pendant la fermentation est liée au développement des cellules de la levûre ou à la vie continuée des

cellules déjà formées n'est nullement en contradiction avec le fait que la levûre fait fermenter l'eau sucrée pure. Il est manifeste pour quiconque a étudié cette fermentation au microscope que, même dans ce cas où l'eau sucrée est pure, les cellules de levûre se multiplient, parce que ces cellules apportent avec elles tous les aliments propres à la vie de la levûre. On les voit bourgeonner, beaucoup du moins, et sans nul doute, celles qui ne bourgeonnent pas continuent de vivre. La vie ne se traduit pas seulement par la génération et la prolifération des cellules.

Si l'on se reporte à mon Mémoire de 1860, tableaux p. 81, expériences D, E, F, G, H, I, on y verra que le poids de la levûre, dans ce cas de la fermentation de l'eau sucrée pure, augmente considérablement et cela même sans tenir compte de ce que la levûre cède à l'eau sucrée de parties solubles, puisque, dans les expériences que je rappelle, les poids de levûre solide, lavée et desséchée à 100 degrés, sont très-supérieurs aux poids de levûre brute employée, desséchée à la même température.

Dans ces expériences les poids de levûre suivants, exprimés en grammes,

2,313
2,626
1,198
0,699
0,326
0,476

sont devenus, après la fermentation, et je le répète sans tenir compte des matières que la levûre a cédées au liquide sucré,

2,486
2,963
1,700
0,712
0,335
0,590

Est-ce que ce n'est pas vivre ou, si l'on préfère ce langage, n'est-ce pas être le siége d'un profond travail chimique de nu-

trition et d'assimilation que d'augmenter de poids d'une manière aussi sensible?

Je rappellerai à ce sujet une de mes premières expériences qu'on trouve dans les *Comptes rendus de l'Académie* pour l'année 1857, et qui montre bien toute l'influence que peut avoir dans la fermentation la portion soluble que les globules de la levûre cèdent à l'eau sucrée :

« Je prends deux quantités égales de levûre fraîche, lavée à grande eau. Je place l'une en fermentation avec de l'eau sucrée pure et, après avoir extrait de l'autre toute sa partie soluble, en la faisant bouillir avec beaucoup d'eau et filtrant pour éloigner les globules, j'ajoute à la liqueur limpide autant de sucre que j'en ai employé dans la première fermentation, plus une trace de levûre fraîche qui ne peut apporter, comme poids de matière, aucun trouble dans les résultats de l'expérience. Les globules semés bourgeonnent, le liquide se trouble, un dépôt de levûre se forme peu à peu, et parallèlement s'effectue le dédoublement du sucre, qui est déjà sensible après quelques heures. Ces résultats étaient faciles à prévoir; mais voici le fait qu'il importe de noter. En déterminant, par cet artifice, l'organisation en globules de la partie soluble de la deuxième portion de levûre, on dédouble un poids de sucre considérable. Voici les résultats d'une expérience : 5^{gr} de levûre ont fait fermenter en six jours $12^{gr},9$ de sucre et étaient épuisés. La partie soluble d'une égale portion de 5^{gr} de la même levûre a fait fermenter $10^{gr},0$ de sucre en neuf jours, et la levûre développée par la semence était également épuisée. »

Comment veut-on que, dans la fermentation de l'eau sucrée pure, la partie soluble de la levûre n'agisse pas pour faire de nouveaux globules ou parfaire les anciens, puisque, d'après l'expérience précédente, lorsqu'on dégage cette partie azotée et minérale par l'ébullition, elle peut servir immédiatement à faire des globules nouveaux qui provoquent la fermentation de beaucoup de sucre sous l'influence d'une trace de globules semés (1).

(1) Il importe de remarquer ici que, dans la fermentation de l'eau sucrée pure

En résumé, Liebig n'est point fondé à dire que la solution de sucre pure mise à fermenter avec la levûre ne renferme aucun des aliments de la levûre, ni azote, ni soufre, ni phosphore, et qu'en conséquence le sucre ne devrait pas pouvoir fermenter. La solution renferme, au contraire, tous ces principes par le fait même de l'introduction et de la présence de la levûre.

Poursuivons l'examen des critiques de Liebig :

« A cela, continue-t-il, il faut ajouter l'action décomposante qu'exerce la levûre de bière sur un grand nombre de matières, et qui ressemble à celle qu'éprouve le sucre. J'ai fait voir que le malate de chaux fermente assez rapidement avec la levûre de bière, et qu'il se scinde en trois autres sels calcaires, à savoir : l'acétate, le carbonate et le succinate. Si l'action de la levûre réside dans son accroissement et dans sa multiplication, on ne peut pas facilement concevoir son action sur le malate de chaux et d'autres sels calcaires à acides végétaux. »

Mais ceci, j'en demande pardon à mon illustre contradicteur, est tout à fait inexact. La levûre n'a pas d'action sur le malate de chaux, ni sur les autres sels calcaires à acides végétaux. Liebig citait déjà autrefois, avec complaisance, l'urée comme pouvant se transformer en carbonate d'ammoniaque dans la fermentation alcoolique au contact de la levûre. J'ai prouvé le contraire. C'est une erreur de même ordre que reproduit ici Liebig. Dans la fermentation dont il parle (la fermentation du malate de chaux), ce sont des levûres *spontanées* qui prennent

---

par la levûre, l'oxygène dissous dans l'eau au début, et celui que les globules de levûre ont pu fixer par leur contact avec l'air, ont une influence considérable sur l'activité de la fermentation. En effet, vient-on à faire passer un fort courant d'acide carbonique dans l'eau sucrée et dans l'eau où l'on a délayé la levûre, la fermentation est des plus lentes, des plus pénibles, et les nouvelles cellules de levûre formées en petit nombre prennent des formes bizarres, monstrueuses. Cela devait être, puisque nous avons vu que la levûre, lorsqu'elle est déjà un peu vieille, ne peut plus se développer, ni provoquer la fermentation d'un liquide fermentescible, muni de tous les principes nutritifs de la levûre, si ce liquide est privé d'air; *a fortiori*, doit-il en être ainsi de l'eau sucrée pure, également privée d'air?

naissance, dont les germes sont associés à la levûre et qui se développent dans le mélange de levûre et de malate. La levûre sert d'aliment à ces nouveaux ferments, sans participer autrement aux fermentations dont il s'agit. Mes recherches ne laissent aucun doute à cet égard, comme on peut s'en convaincre encore au paragraphe précédent, par les observations relatives à la fermentation du tartrate de chaux.

Sans doute, il existe des circonstances où la levûre produit des modifications dans diverses substances. Dœbereiner et Mitscherlich surtout nous ont appris que la levûre cède à l'eau une substance soluble qui liquéfie le sucre de canne, qui l'intervertit en fixant les éléments de l'eau, comme la diastase liquéfie l'empois, comme l'émulsine fixe l'eau sur l'amygdaline et la décompose... Et M. Berthelot a montré qu'on pouvait isoler cette substance en la précipitant par l'alcool comme on précipite la diastase de ses dissolutions (1). Ce sont là des faits

---

(1) DOEBEREINER, *Journal de Chimie de Schweigger*, t. XII, p. 129, et *Journal de Pharmacie*, t. I, p. 342.

MITSCHERLICH, *Comptes rendus mensuels de l'Académie de Berlin* et *Rapports annuels de Berzelius*, Paris, 1843, 3e année. A l'occasion d'un Mémoire de H. Rose, sur l'inversion du sucre de canne, publié en 1840, M. Mitscherlich s'exprime ainsi : « L'inversion du sucre de canne dans la fermentation alcoolique n'est pas due aux globules de ferment, mais à une matière soluble dans l'eau avec laquelle ils sont mélangés. La liqueur qu'on obtient, en laissant égoutter le ferment sur un filtre, possède la propriété de convertir le sucre de canne en sucre incristallisable. »

BERTHELOT, *Comptes rendus de l'Académie.* Séance du 28 mai 1860. M. Berthelot confirme l'expérience précédente de Mitscherlich et prouve, en outre, que la matière soluble dont parle Mitscherlich se précipite par l'alcool, en conservant son pouvoir inversif.

L'observation de Mitscherlich, relative au ferment soluble de la levûre, a été étendue par M. Béchamp aux moisissures, c'est-à-dire que cet observateur a reconnu ce fait intéressant que les moisissures, comme la levûre, cèdent à l'eau une substance qui intervertit le sucre. En empêchant par un antiseptique la naissance des moisissures, le sucre ne s'intervertit plus.

A ce propos, je dois écarter une réclamation de priorité élevée par M. Béchamp. On sait que j'ai démontré le premier que les ferments vivants peuvent se constituer de toutes pièces par leurs germes déposés dans l'eau pure, où l'on a introduit du sucre, de l'ammoniaque et des phosphates, à l'abri de la lumière et de la matière verte. M. Béchamp s'appuyant sur le fait ancien, que des moisissures

remarquables, mais qui n'ont encore que des rapports assez vagues avec la fermentation alcoolique du sucre par la levûre. Mes recherches qui ont montré l'existence de levûres spéciales, de ferments vivants, dans plusieurs fermentations où l'on avait cru à de simples actions de contact, ont certainement établi de profondes différences entre les fermentations que j'appelle proprement dites et les phénomènes dus à des substances solubles. Plus on avance, plus on trouve que ces différences s'accentuent. M. Dumas a insisté sur le fait que les ferments des fermentations proprement dites se multiplient et se reproduisent pendant qu'ils agissent, tandis que les autres se détruisent (1). Plus récemment encore, M. Müntz a montré que le chloroforme empêche les fermentations proprement dites sans nuire à l'action

---

naissent dans l'eau sucrée et intervertissent, suivant lui, le sucre, prétend avoir prouvé « que des ferments organisés vivants peuvent naître dans des milieux dépourvus de matières albuminoïdes. » (Voir *Comptes rendus*, t. LXXV, p. 1519.) Pour être logique, M. Béchamp pourrait dire qu'il a prouvé que des moisissures naissent dans l'eau sucrée pure, sans azote, sans phosphates, ni autres éléments minéraux, car c'est là une énormité qu'on peut déduire de son travail, dans lequel il n'y a pas même l'expression du moindre étonnement que des moisissures aient pu pousser dans l'eau pure, avec du sucre pur, sans autres principes minéraux ou organiques.

La première Note de M. Béchamp sur l'inversion du sucre est de 1855. Il n'y est pas du tout question de l'influence des moisissures; la seconde, où il constate cette influence, est du 4 janvier 1858, postérieure, par conséquent, à mon travail sur la fermentation lactique, qui est du mois de novembre 1857, où j'ai établi pour la première fois que le ferment lactique est un être organisé vivant, que les matières albuminoïdes ne sont pour rien dans la cause de la fermentation, qu'elles ne sont que l'aliment du ferment, postérieure aussi à mon premier travail sur la fermentation alcoolique, qui est du 21 décembre 1857.

C'est à dater de ces deux Mémoires qu'on a mieux compris la part prépondérante de la vie des organismes microscopiques, dans les phénomènes de fermentation. Ce qui est certain, c'est qu'à peine avaient-ils paru que M. Béchamp, qui, depuis 1855, n'avait pas signalé l'action des moisissures sur le sucre, quoiqu'il eût remarqué leur présence, modifia aussitôt ses conclusions (*Comptes rendus*, 4 janvier 1858) antérieures.

(1) « Il y a deux classes de ferments : les uns, dont la levûre de bière représente le type, se perpétuent et se renouvellent quand le liquide où s'opère la fermentation leur offre l'aliment dont ils ont besoin ; les autres, qui ont pour type la diastase, se détruisent toujours quand ils exercent leur action. » (DUMAS, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. LXXV, p. 277, année 1872.)

des diastases (*Comptes rendus*, 1875). Déjà M. Bouchardat avait établi que « l'acide cyanhydrique, les sels mercuriels, l'éther sulfurique, l'alcool, la créosote, les essences de térébenthine, de citron, de girofle, de moutarde, anéantissent ou ralentissent la fermentation alcoolique et ne s'opposent nullement aux fermentations glucosique, salygénique et benzoïque. » (*Annales de Chimie et de Physique*, 3e série, t. XIV, 1845.)

J'ajoute, à l'honneur de la sagacité de M. Bouchardat, que cet habile observateur a toujours considéré ces résultats comme une preuve que la fermentation alcoolique dépend de la vie des globules de la levûre et qu'il fallait distinguer deux ordres de fermentations.

M. Paul Bert, dans ses remarquables recherches sur l'influence de la pression barométrique dans les phénomènes de la vie, a reconnu que l'oxygène comprimé tue certains ferments organisés et qu'il ne nuit pas, dans ces conditions, à l'action des substances désignées sous le nom de *ferments solubles*, telles que la diastase, le ferment qui intervertit le sucre de canne, l'émulsine... Pendant leur séjour dans l'air comprimé, les fermentations proprement dites sont arrêtées, et elles ne reprennent pas après leur exposition à l'air libre si l'on évite l'accès des germes extérieurs.

Mais j'arrive à l'objection capitale de Liebig, qui termine son habile plaidoyer, et à laquelle il ne consacre pas moins de huit à neuf pages des *Annales de Chimie*.

Il s'agit de la possibilité de faire croître la levûre dans de l'eau sucrée à laquelle on a ajouté un sel d'ammoniaque et des cendres de levûre, fait évidemment incompatible avec la théorie de Liebig, qui suppose que le ferment est toujours une matière albuminoïde en voie de décomposition. Or ici la matière albuminoïde n'existe pas; il n'y a que les principaux minéraux qui serviront à la former. On sait que Liebig comprenait que la levûre et, en général, un ferment quelconque sont des substances azotées albuminoïdes, qui à la manière de l'émulsine, par exemple, ont le pouvoir de déterminer des décompositions

chimiques. Il rattachait la fermentation à la facile décomposition de ces substances albuminoïdes et se représentait le phénomène de la façon suivante : « la substance albuminoïde en voie de décomposition jouit de la faculté de communiquer à certains autres corps le même état de mouvement où se trouvent actuellement ses atomes ; par son contact avec d'autres corps, elle les rend donc capables de se décomposer ou d'entrer dans d'autres combinaisons ». Liebig méconnaissait donc que la levûre, en tant qu'organisme vivant, eût rien à faire dans la fermentation.

Cette théorie date de 1843. En 1846, MM. Boutron et Fremy, dans un Mémoire sur la fermentation lactique, publié dans les *Annales de Chimie et de Physique*, exagérèrent ses conséquences de la manière la moins justifiée. Ils admirent qu'une même matière azotée pouvait revêtir des modifications diverses au contact de l'air et être successivement, soit ferment alcoolique, soit ferment lactique, soit ferment butyrique, etc. Rien n'est commode comme les théories qui ne sont pas l'expression obligée des faits, qui ne sont qu'hypothétiques. On les greffe d'hypothèses nouvelles quand de nouveaux faits viennent à se présenter ne pouvant cadrer avec l'hypothèse primitive. C'est ce que Liebig et M. Fremy ont fait chacun de leur côté, sous la pression de mes études, commencées en 1857. M. Fremy inventa, en 1864, la théorie de l'hémiorganisme, ce qui signifiait simplement qu'il abandonnait la théorie de Liebig de 1843 et les additions que lui et M. Boutron y avaient apportées en 1846 ; en d'autres termes, il abandonnait l'opinion que les matières albuminoïdes sont des ferments, pour adopter cette autre que les matières albuminoïdes sont des substances propres à s'organiser au contact de l'air en des êtres nouveaux, savoir les ferments vivants que j'avais découverts et que les levûres de bière et de raisin avaient la même origine.

La théorie de l'hémiorganisme était mot pour mot la théorie surannée de Turpin, comme on peut s'en convaincre en se reportant au Chapitre IV, p. 121. Le public n'y regarda pas de si près, un certain public surtout. C'était l'époque des discussions ardentes sur la génération spontanée. Le mot nouveau d'*hé-*

miorganisme, c'était la seule nouveauté de la Note de M. Fremy, en imposa. On crut que M. Fremy venait de découvrir la vraie solution de la grande question pendante. Il y avait bien quelque embarras à comprendre comment une matière albuminoïde pouvait devenir tout à coup une cellule vivante et bourgeonnante. M. Fremy résolut facilement la difficulté. Il dit que cela avait lieu par une force méconnue jusqu'à ce jour, la force de « l'entraînement organique » (1).

Non moins contraint que M. Fremy de sacrifier ses opinions sur la nature du ferment, Liebig imagina l'obscure théorie suivante (Mémoire précité de 1870) :

« Le rôle que joue l'organisme végétal dans le phénomène de la fermentation ne semble pas être douteux. Par son intervention seulement, une substance albuminoïde et le sucre peuvent s'unir pour former cette combinaison particulière ou cette forme instable sous laquelle seulement ils manifestent, comme partie constituante du mycoderme, une action sur le sucre. Si le mycoderme cesse de croître, le lien qui unit les parties constitutives du contenu cellulaire se dénoue, et c'est par le mouvement qui s'y produit que les cellules de la levûre déterminent un dérangement ou une séparation des éléments du sucre en d'autres molécules organiques. »

On croirait volontiers que le traducteur des *Annales* s'est trompé tant il y a d'obscurité dans ce passage.

Qu'on prenne cette nouvelle forme de la théorie ou l'ancienne, l'une et l'autre s'accommodent fort mal du développement de la levûre et de la fermentation dans un milieu minéral sucré; car, dans cette dernière expérience, la fermentation est bien corrélative de la vie de la levûre, de sa nutrition, d'un échange incessant entre la levûre et ses aliments, puisque tout le carbone assimilé par la levûre vient du sucre, son azote de l'ammoniaque, son phosphore des phosphates en dissolution. A quoi bon, dès lors, les hypothèses gratuites d'action de contact ou de mouvement communiqué? L'expérience dont il

---

(1) Fremy, *Comptes rendus de l'Académie*, t. LVIII, p. 1065, année 1864.

s'agit est donc bien l'expérience maîtresse et c'est son existence même qui constitue le point vif du débat. Sans doute Liebig pouvait dire : mais c'est le mouvement de vie et de nutrition que constate votre expérience qui est le mouvement qui se communique et dont ma théorie a besoin. Chose curieuse, il essaye, en effet, de le dire, quoique timidement et incidemment : « Au point de vue chimique, point de vue que je ne voudrais pas abandonner, un *acte vital* est *un phénomène de mouvement* et, dans ces deux sens, l'opinion de M. Pasteur n'est pas en contradiction avec la mienne et n'en est pas une réfutation (page 6). » C'est vrai. Et ailleurs :

» Il pourrait se faire que la seule corrélation entre l'acte physiologique et le phénomène de la fermentation fût la production, dans la cellule vivante, de la substance qui, par une vertu particulière, analogue à celle qu'exerce l'émulsine sur la salicine et l'amygdaline, déterminerait la décomposition du sucre en d'autres molécules organiques ; l'acte physiologique, dans ce cas, serait nécessaire pour la production de cette substance, mais n'aurait pas d'autre rapport avec la fermentation (page 10). » Ici, je ne contredirais encore pas.

Toutefois Liebig ne s'arrête pas à ces considérations qu'il énonce comme en passant, parce qu'il sent bien que ce ne sont pour la défense de sa théorie que des faux-fuyants. S'il y eût insisté, ou s'il eût borné là sa contradiction, ma réponse eût été simplement celle-ci : Si vous admettez avec moi que la fermentation est corrélative de la vie, de la nutrition de la levûre, nous sommes d'accord sur le point capital. Si cet accord entre nous existe, occupons-nous, si vous le voulez, de la cause intime de la fermentation, ce qui est une seconde question fort distincte de la première. La science vit de solutions successives données à des *pourquoi* de plus en plus subtils, de plus en plus rapprochés de l'essence même des phénomènes. S'il s'agit de discuter la question de savoir comment les êtres organisés vivants agissent pour décomposer les matières fermentescibles, vous me trouverez encore combattant votre hypothèse du mouvement communiqué, parce que dans ma pensée la cause in-

time des fermentations doit être cherchée, le plus souvent, dans le fait de la vie sans air qui est propre à beaucoup de ferments.

Bref, voyons comment Liebig juge l'expérience de la fermentation par ensemencement d'un milieu minéral sucré si incompatible avec sa manière de voir (1). Après une discussion approfondie, il déclara cette expérience inexacte et mal fondée. Liebig n'était pas homme toutefois à nier sans motifs sérieux, dans le seul but d'échapper à une discussion embarrassante. « J'ai répété, dit-il, un grand nombre de fois, avec le plus grand soin cette expérience, et j'ai obtenu les mêmes résultats que M. Pasteur, sauf la formation et l'augmentation de la levûre. » Or la formation et l'augmentation de la levûre, c'était toute l'expérience. Le débat se trouva ainsi nettement limité : Liebig niant que la levûre puisse se développer dans un milieu minéral sucré et moi affirmant que ce développement existait et était relativement facile à mettre en évidence.

En 1871, je répondis à Liebig, devant l'Académie des Sciences de Paris, par une Note dans laquelle j'offrais de préparer, dans un milieu minéral, en présence d'une commission choisie à cet effet, un poids de levûre aussi grand que Liebig pourrait raisonnablement en demander (2). J'étais plus hardi que je ne l'eusse été peut-être en 1860; c'est que mes connaissances sur le sujet s'étaient fortifiées par dix années d'études nouvelles. Liebig n'accepta point ma proposition et il laissa même ma Note sans réponse. Jusqu'à sa mort, arrivée le 18 avril 1873, il n'écrivit plus rien sur ce sujet (3).

Lorsque je publiai, en 1860, les détails de l'expérience dont il

---

(1) *Voir*, dans les *Annales de Chimie et de Physique*, mon Mémoire de 1860, t. LVIII, p. 61 et suivantes, et surtout p. 69 et 70 les détails de l'expérience.

(2) PASTEUR, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. LXXIII, p. 1419, année 1871.

(3) M. Liebig nous a fait, dans son Mémoire de 1870, un singulier aveu :

« Feu mon ami Pelouze, dit-il, m'avait fait part, il y a neuf ans, des résultats des travaux de M. Pasteur sur la fermentation. Je lui répondis que, pour le moment, je ne me sentais pas disposé à changer d'opinion sur la cause de la fermentation; que, s'il était possible de produire ou de multiplier avec de l'ammoniaque, de la levûre dans les liqueurs fermentantes, l'industrie s'emparerait

s'agit, j'avais insisté longuement sur les difficultés de la bien faire et sur les causes possibles de son insuccès. Je fis voir en particulier que les milieux minéraux sucrés sont beaucoup plus aptes à nourrir les bactéries et la levûre lactique et d'autres productions inférieures que la levûre de bière et que ces milieux se remplissent facilement de divers organismes par suite de l'ensemencement spontané des germes contenus dans les poussières en suspension dans l'atmosphère. On n'y voit pas naître les levûres alcooliques, surtout au début des expériences, à cause d'un défaut d'appropriation de ces milieux à la vie de la levûre; car celle-ci peut s'y former à la rigueur après que ces milieux ont donné naissance à d'autres productions organisées qui modifient la composition du milieu minéral originel par les matières albuminoïdes qu'elles y introduisent. On ne lira pas sans intérêt dans mon Mémoire de 1860 certains faits du même ordre concernant la fermentation à l'aide des albumines, l'albumine du sang par exemple, d'où j'avais déduit, pour le dire en passant, l'existence dans le sérum de plusieurs albumines distinctes, conclusion qui a été confirmée ultérieurement par divers observateurs, notamment par M. Béchamp.

Sans nul doute Liebig n'aura pas réussi à dégager ses expériences de fermentation dans l'eau sucrée, additionnée de cendres de levûre et d'un sel d'ammoniaque, des embarras qu'elles comportent par suite de la naissance spontanée d'autres organismes que la levûre. Peut-être fallait-il aussi pour assurer leur succès une confiance dans les observations microscopiques plus grande que Liebig ne paraît leur en accorder dans quelques passages de son Mémoire. Je suis persuadé que ses élèves

---

rapidement de ce fait, et que je voulais attendre cela; mais, jusqu'à présent, rien n'a été changé dans la fabrication de la levûre de bière. »

Je ne sais ce que l'esprit si juste de M. Pelouze a répondu, mais il n'est pas difficile de préjuger qu'il aura fait observer à son illustre ami, que jamais la possibilité du profit pécuniaire dans l'application en grand d'un fait scientifique nouveau n'a été le critérium de l'exactitude de ce fait. Je pourrais prouver, d'ailleurs, par des témoignagnes authentiques de praticiens très-distingués, notamment de M. Pezeyre, directeur de distilleries, que sur ce point encore Liebig était dans l'erreur.

nous apprendraient que Liebig n'a jamais fait usage de cet instrument sans lequel toute recherche précise sur les fermentations est devenue, non pas seulement difficile, mais à peu près impossible. Pas plus que Liebig je n'avais obtenu, par les motifs que j'ai rappelés, une fermentation alcoolique simple. Celle de mes expériences dont j'ai donné le détail dans mon Mémoire de 1860 avait été à la fois lactique et alcoolique et l'acide lactique développé en quantité sensible ayant arrêté la propagation des levûres lactique et alcoolique, plus de la moitié du sucre était restée dans la liqueur sans fermenter. Cela n'ôtait rien à la rigueur de la conclusion que j'avais déduite de cette expérience et d'autres analogues; on peut même dire que le point de vue général et philosophique, seul intéressé ici, était doublement satisfait, puisque je démontrais que les milieux minéraux étaient propres au développement simultané de plusieurs ferments organisés, au lieu d'un seul. L'association fortuite de diverses levûres ne pouvait infirmer cette conclusion que tout l'azote des cellules des levûres alcoolique et lactique provenait de l'azote des sels ammoniacaux, et que tout le carbone de ces ferments avait été emprunté au sucre, puisque le sucre avait été la seule substance qui, dans le milieu soumis aux expériences, contînt du carbone. Liebig se garda bien de faire cette remarque qui aurait détruit tout l'échafaudage de ses critiques, et il crut se donner les apparences d'une contradiction sérieuse en arguant que je n'avais pas eu une fermentation alcoolique simple.

Il serait sans utilité de prolonger cette discussion au sujet des difficultés que présentait autrefois la propagation de la levûre dans un milieu minéral sucré. Les choses, en effet, ont bien changé depuis par le progrès de mes études, et c'est là ce qui m'avait rendu si hardi, lorsque dans ma réponse à Liebig devant l'Académie des Sciences, en 1871, j'avais offert de préparer dans un milieu minéral sucré, en présence d'une commission qui eût été désignée par lui, autant de levûre qu'on pourrait en demander et de provoquer la fermentation d'un poids quelconque de sucre.

Les connaissances que nous avons acquises dans les précédents Chapitres au sujet des levûres pures et de leur manipulation en présence de l'air pur nous permettent, en effet, d'éloigner complétement les causes perturbatrices résultant du mélange fortuit de germes d'organismes étrangers à la nature de la levûre apportés par l'air, par les parois des vases ou par la levûre elle-même.

Reprenons notre ballon à deux tubulures (*fig.* 22, page 109), que je supposerai avoir une capacité de 3 à 4^{lit}.

Plaçons-y les matériaux suivants :

Eau distillée pure	
Sucre candi.............	200^{gr}
Bitartrate de potasse......	1,0
» d'ammoniaque...	0,5
Sulfate d'ammoniaque.....	1,5
Cendres de levûre........	1,5

Faisons bouillir afin de priver de vie tous les germes d'organismes que l'air, le liquide, les parois du ballon peuvent contenir et laissons refroidir après avoir placé pour plus de sûreté un pinceau d'asbeste à l'extrémité du tube effilé recourbé. Alors introduisons une trace de levûre dans le liquide par la tubulure droite, terminée, comme on le sait, par un tube de caoutchouc et un bouchon de verre.

Voici le détail d'une de ces expériences :

Le 9 décembre 1873 on sème la levûre pure qui est le *saccharomyces pastorianus*. Dès le 11 décembre, par conséquent quarante-huit heures seulement après la mise en levain, on voit s'élever du fond, presque continuellement, une foule de petites bulles microscopiques, annonçant qu'en ce point il y a un commencement de fermentation. Les jours suivants, plusieurs îlots de mousse paraissent à la surface du liquide. On laisse le ballon tranquillement abandonné à l'étuve à 25 degrés. Le 24 avril 1874, on essaye sur une prise du liquide faite par la tubulure droite s'il reste encore du sucre dans la liqueur. On trouve qu'il en reste moins de 2^{gr}, de telle sorte que 198^{gr} ont déjà

disparu. Quelque temps après, la fermentation a été complète, mais on n'a mis fin à l'expérience que le 18 avril 1875.

Rien absolument d'étranger à la levûre, qui était abondante, ne s'était développé, circonstance qui, jointe à la persistance de la vitalité de la levûre malgré le peu de convenance du milieu pour sa nutrition, a permis le complet achèvement de la fermentation. Il ne restait pas la plus petite quantité de sucre. Le poids total de levûre après lavage et dessiccation à 100° a été de 2gr,563.

Dans ce genre d'expériences, lorsqu'on doit peser la levûre, il vaut mieux ne pas se servir de cendres de levûre qui ne se dissolvent pas complétement et qu'on ne peut séparer ensuite facilement de la levûre formée. Le liquide Raulin (*voir* sa composition page 89) peut être employé dans ce cas avec succès.

Toutes les levûres alcooliques ne sont pas propres au même degré à s'organiser à l'aide de phosphates, de sels ammoniacaux et de sucre. Il en est dont le développement s'arrête plus ou moins longtemps avant que tout le sucre se soit transformé. Dans une série d'expériences comparatives, faites chacune sur 200gr de sucre candi, j'ai trouvé que, tandis que le *saccharomyces pastorianus* avait fait fermenter complétement le sucre, la levûre caséeuse n'en avait détruit que les $\frac{2}{3}$, et la levûre que j'ai appelée *nouvelle levûre haute* moins de $\frac{1}{5}$: un plus long séjour des ballons à l'étuve n'a pas accru les proportions du sucre fermenté dans ces deux derniers cas.

J'ai fait un très-grand nombre de fermentations avec milieu minéral par suite d'une circonstance qu'il n'est pas sans intérêt de rappeler. Une des personnes qui travaillaient dans mon laboratoire prétendait que le succès de mes expériences tenait à l'impureté du sucre candi que j'employais ; que si ce sucre était absolument pur, beaucoup plus pur que ne l'est le sucre candi blanc du commerce, que j'avais toujours utilisé jusque-là, la levûre ne pourrait se multiplier. La persistance des objections de mon ami et le désir que j'avais de le convaincre m'obligèrent à reprendre toutes mes expériences antérieures en me servant de sucre très-pur. Celui-ci fut préparé à ma demande,

avec des soins particuliers par l'habile confiseur Seugnot. Le résultat ne fit que confirmer mes premières conclusions. Toutefois l'obstination de mon contradicteur ne céda pas encore et il se donna la peine de préparer lui-même du sucre pur, en petits cristaux, par des cristallisations répétées de sucre candi déjà choisi dans le commerce, puis il refit lui-même les expériences. Cette fois tous ses doutes furent dissipés. Il arriva même que les fermentations avec le sucre tout à fait pur étaient plutôt accélérées que ralenties relativement à celles qui portaient sur le sucre candi commercial.

J'ajouterai ici quelques mots au sujet de la non-transformation possible de la levûre en *penicillium glaucum*.

Vient-on à vider le liquide fermentant à une époque quelconque de la fermentation, le dépôt de levûre qui reste dans le vase peut y séjourner au contact de l'air, sans que jamais on voie apparaître la moindre formation de *penicillium glaucum*. On peut faire traverser continûment le ballon par de l'air pur l'expérience donne le même résultat. Le milieu est néanmoins très-propre au développement de cette moisissure ; car, si l'on fait pénétrer dans le vase quelques spores seulement de *penicillium*, une végétation abondante de la moisissure se montre ultérieurement sur le dépôt. Les descriptions de MM. Turpin, Hoffmann et Trécul ont donc porté sur une de ces illusions qu'on rencontre si fréquemment dans les observations au microscope.

Lorsque j'ai produit ces faits devant l'Académie (1), M. Trécul ne voulut pas les comprendre (2) :

« .... D'après M. Pasteur, dit-il, la levûre de bière est une *anaérobie*, c'est-à-dire qu'elle vit dans un liquide privé d'oxygène libre ; pour qu'elle devienne *mycoderma* ou *penicillium*, qui sont des aérobies, il faut de toute nécessité la placer dans l'air ; car, sans cela, ainsi que le nom l'indique, il n'y a point d'aérobie possible. Pour obtenir la transformation de la levûre

(1) Pasteur, *Comptes rendus de l'Académie*, t. LXXVIII, p. 213-216.
(2) Trécul, *Comptes rendus de l'Académie*, t. LXXVIII, p. 217-218.

de bière en *mycoderma cerevisiæ* ou en *penicillium glaucum*, il faut accepter les conditions dans lesquelles ces deux formes ont été obtenues. Si M. Pasteur persiste à tenir la levûre dans des milieux qui ne peuvent donner la modification voulue, il est clair que ses résultats seront toujours négatifs. »

Contrairement à ce qu'affirme très-gratuitement M. Trécul, je ne tiens pas du tout la levûre dans des milieux qui ne peuvent donner la transformation en *penicillium*. Mon expérience, on vient de le voir, a précisément pour but et caractère principal de mettre cette petite plante au contact de l'air et dans les conditions où le *penicillium* peut pousser parfaitement. Je fais exactement ce qu'ont fait Turpin et M. Trécul, exactement ce qu'ils désirent que l'on fasse, avec cette seule différence, indispensable à la rigueur de l'observation, que je me place à l'abri des causes d'erreur, ce dont ils ne se sont préoccupés en aucune façon. On peut faciliter beaucoup l'entrée et la sortie de l'air pur des ballons à deux tubulures si souvent employés dans cet Ouvrage, sans même recourir au passage continu d'un courant d'air. Après avoir fait un trait de lime sur le col qui est effilé et recourbé, à 2 ou 3 centimètres du ballon, on pratique une fêlure circulaire en ce point avec un crayon à couper le verre, puis on détache le col en ayant soin d'appliquer aussitôt sur l'ouverture une feuille de papier flambé qu'on lie ensuite par un fil autour de la portion restante du col. Par cet artifice on peut accroître ou prolonger la fructification des moisissures ou la vie des levûres aérobies dans les ballons.

Ce que je dis du *penicillium glaucum* s'applique au *mycoderma cerevisiæ*. En opposition aux affirmations de Turpin et de M. Trécul, la levûre, au contact de l'air, comme dans les conditions de l'expérience que je viens de décrire, ne donne pas plus de *mycoderma vini* ou de *mycoderma cerevisiæ* que de *penicillium*.

Les expériences des paragraphes précédents sur la génération des ferments organisés dans des milieux minéraux, composés comme nous l'avons dit, ont un grand intérêt physiolo-

gique. Elles démontrent, entre autres résultats, que toutes les matières protéiques des levûres peuvent prendre naissance par l'activité vitale des cellules mettant en œuvre des substances hydrocarbonées, hors de l'influence de la lumière et de l'oxygène libre (ou avec le concours de l'oxygène libre, s'il s'agit des moisissures aérobies), avec des sels ammoniacaux, des phosphates et des sulfates de potasse et de magnésie. On pourrait admettre à la rigueur qu'un effet semblable se produit dans les plantes supérieures. Quel motif sérieux pourrait-on même invoquer, dans l'état actuel de la Science, pour ne pas considérer cet effet comme général? Il ne serait pas illogique d'étendre les résultats dont nous parlons à toutes les plantes, et de croire que les matières protéiques des végétaux et peut-être même celles des animaux se forment exclusivement par l'activité des cellules agissant sur les sels ammoniacaux, les sels minéraux de la séve ou du plasma du sang et les matières hydrocarbonées dont la formation dans les végétaux supérieurs exigerait seule le concours des forces chimiques de la lumière verte.

Dans cette manière de voir, la formation des matières protéiques serait indépendante du grand acte de réduction du gaz carbonique sous l'influence de la lumière. Ces matières ne seraient pas édifiées par les éléments de l'eau, de l'ammoniaque et du gaz carbonique à la suite de la décomposition de ce dernier; elles se formeraient sur place, dans les cellules mêmes, par une copulation entre les matières hydrocarbonées, charriées par la séve, et les phosphates de potasse et de magnésie et les sels d'ammoniaque. Enfin, comme, dans la production végétale par une matière hydrocarbonée et un milieu minéral, la matière hydrocarbonée peut varier beaucoup et qu'on comprendrait difficilement qu'elle se réduisît à ses éléments avant de servir à constituer les matières protéiques, on pourrait espérer obtenir autant de matières protéiques distinctes et même de celluloses qu'il existe de matières hydrocarbonées. J'ai commencé des études dans cette direction.

Si la radiation solaire est indispensable pour la décomposition de l'acide carbonique et l'édification des principes immé-

diats chez les grands végétaux, certains organismes inférieurs peuvent s'en passer et fournir néanmoins les substances les plus complexes, substances grasses, substances hydrocarbonées, telles que la cellulose, acides organiques divers, matières protéiques, non toutefois en empruntant leur carbone au gaz acide carbonique qui est saturé d'oxygène, mais à d'autres matières encore oxydables et capables de fournir de la chaleur par cette oxydation, l'alcool et l'acide acétique, par exemple, pour ne citer que les composés carbonés les plus éloignés de l'organisation. Comme ces derniers composés et une foule d'autres, également propres à servir d'aliment carboné aux mycodermes et aux mucédinées, peuvent être produits synthétiquement à l'aide du carbone et de la vapeur d'eau, par les méthodes que la Science doit à M. Berthelot, il en résulte que la vie serait possible chez certains êtres inférieurs, alors même que la lumière solaire viendrait à disparaître (1).

---

(1) *Voir* à ce sujet les observations verbales que j'ai présentées à l'Académie des Sciences, dans ses séances des 10 et 24 avril 1876.

CHAPITRE VII.

NOUVEAU PROCÉDÉ DE FABRICATION DE LA BIÈRE.

Les principes que nous avons établis dans le cours de cet Ouvrage renferment implicitement les conditions d'un nouveau procédé de fabrication dont le caractère essentiel serait de fournir une bière d'une conservation facile, voire même inaltérable. Il est aisé de s'en convaincre.

Nous avons démontré, en premier lieu, que les altérations qui se produisent dans la levûre de bière, dans le moût de bière et dans la bière elle-même, ont pour cause la présence d'organismes microscopiques, d'une tout autre nature que celle de la levûre proprement dite, et qui, par les produits corrélatifs de leurs multiplications dans les moûts, dans les levûres et dans les bières, en dénaturent les propriétés et s'opposent par suite à leur conservation.

En outre, nous avons reconnu que ces organismes d'altérations, que ces ferments de maladie ne sont jamais spontanés, que toutes les fois qu'ils se montrent dans le moût ou dans la bière, c'est qu'ils y ont été apportés de l'extérieur, soit par les levains, soit par les poussières de l'atmosphère, soit par les ustensiles ou par les matières premières que l'art du brasseur met en œuvre.

Nous savons également que ces ferments de maladies ou leur germes périssent dans le moût de bière à la température de son ébullition et, comme déduction obligée de ces faits, nous avons vu le moût de bière exposé à l'air pur, après avoir été porté à l'ébullition, n'éprouver aucune sorte de fermentation.

En conséquence, puisque tous les germes de maladie du moût et de la bière sont tués dans la chaudière de cuisson du moût, puisque l'emploi d'une levûre de bière pure ne peut apporter dans la bière aucun ferment étranger de mauvaise nature, on doit pouvoir préparer de la bière incapable de donner lieu à une fermentation étrangère maladive quelconque, si le moût sortant de la chaudière est refroidi et manipulé à l'abri de l'air ordinaire ou au contact de l'air pur, puis mis en levain pur, et si la bière après sa fermentation est logée dans des vaisseaux bien purgés de ferments de maladies (1).

§ I. — Expériences préliminaires.

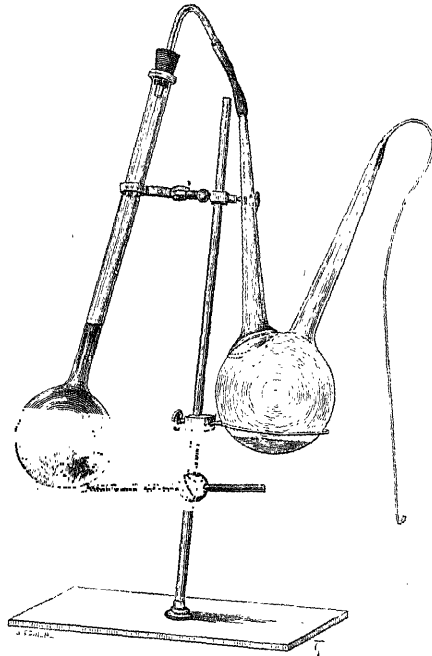
Nous pouvons nous convaincre de la vérité de ces déductions. L'expérience suivante est une des premières que j'aie entreprises pour vérifier leur exactitude. Dans un ballon à col droit du volume de 1^{lit}, je fis bouillir du moût de bière de brasserie, et, pendant que la vapeur sortait encore du goulot, je joignis celui-ci à un ballon à deux cols où je venais de cultiver de la levûre pure. Le bouchon et le tube de verre utilisés pour cette jonction avaient été passés dans l'eau bouillante. Quand le moût fut refroidi dans son ballon et les choses disposées comme le représente la *fig.* 75, je soulevai le ballon à deux cols, de manière à faire couler un peu du liquide et de la levûre dans le moût. Celui-ci entra ensuite en fermentation ; le gaz acide carbonique de cette dernière sortait par l'extré-

---

(1) M. Galland, brasseur à Maxéville, près de Nancy, a publié au mois de novembre 1875 une brochure autographiée, reproduite dans les journaux de brasserie de cette époque, ayant pour épigraphe : On a dit : « L'air est impur, supprimons-le. » Nous disons : « L'air est impur, purifions-le ». Ces deux aphorismes, ensemble ou séparément, constituent la nouveauté expresse de mes publications sur la bière, et M. Galland s'est mépris, en paraissant s'attribuer le mérite du second. (*Voir* ma Note des *Comptes rendus de l'Académie des Sciences* du 17 novembre 1873 et le texte du brevet du 13 mars de la même année.)

M. Galland a imaginé pour l'application du dernier des deux principes précédents des dispositions qui lui sont propres; mais on peut faire varier celles-ci de bien des manières. M. Velten, brasseur à Marseille, en avait déjà adopté de particulières dans des essais de mise en œuvre du procédé exposé dans cet Ouvrage.

mité effilée du ballon à deux cols. Tout le système avec son support resta pendant dix-huit mois tantôt dans une étuve, tantôt dans un

Fig. 75.

laboratoire, exposé à toutes les variations de température extérieure. Au bout de ce temps, on goûta la bière du ballon : elle était parfaitement saine et sa levûre, examinée au microscope, n'offrait pas les moindres traces de ferments étrangers. Nul doute que la durée de l'expérience aurait pu être prolongée pendant un nombre d'années quelconque. On vit seulement naître à la longue, au niveau de la bière, dans le goulot du ballon, un dépôt adhérent de petits mamelons ressemblant à une cristallisation, mais qui était en réalité formé d'une de ces levûres que j'ai appelées, au Chapitre V *levûres aérobies*. La bière mise dans une bouteille qui avait été lavée à l'eau chaude fut conservée pendant plusieurs mois, en été, sans éprouver d'altération de maladie.

Les conditions fondamentales de l'expérience précédente peuvent être réalisées dans des vases d'une grande dimension. A cet effet, disposons l'appareil ci-joint en fer-blanc ou en cuivre étamé. Ainsi que le dessin le fait voir, il se compose d'une cuve reposant sur un plancher et fermée par un couvercle dont le bord tombant s'engage dans une gouttière pleine d'eau.

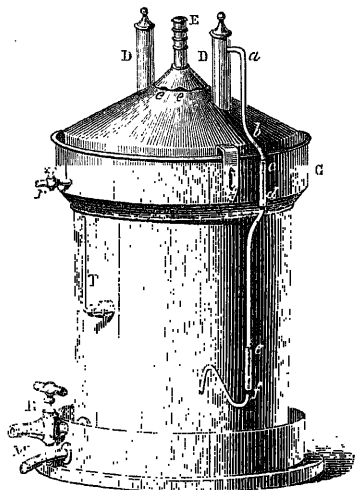
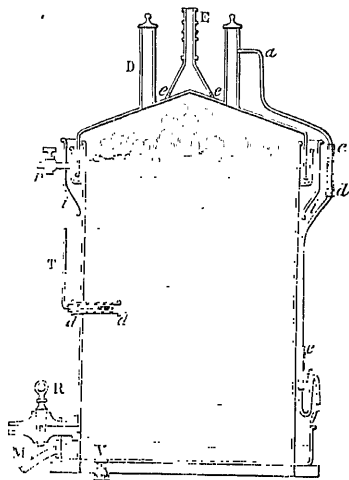



Fig. 76. Fig. 77.

Le moût de bière préparé dans la chaudière de cuite est conduit dans le cylindre; le refroidissement qu'il éprouve pendant cette manipulation n'abaisse sa température que de quelques degrés. Or nous savons que le moût de bière des brasseries, refroidi au contact de l'air ordinaire et qui s'est chargé à ce contact de germes d'altération, reprend sa faculté de conservation indéfinie en présence de l'air pur, pourvu qu'on lui fasse subir de nouveau une température de 80°, même de 75 à 70°.

On pose le couvercle; au moyen du tube en caoutchouc *cd* on réunit le tube métallique *ac* (qui est scellé au couvercle et s'ouvre dans une des tubulures qui le surmontent) avec les tubes *defg* dont la portion *de* est scellée au cylindre : *ef* est un

raccord en caoutchouc qui réunit la portion *de* au tube de verre *g* recourbé comme l'indique la figure. Sur le couvercle, sur les douilles, sur leurs bouchons, on jette de l'eau bouillante qui remplit la gouttière et dont l'excès passe dans une seconde gouttière extérieure où l'eau ne peut séjourner, parce qu'on a laissé un intervalle ou une couronne de petits trous entre la partie inférieure *ii* de cette gouttière et le cylindre.

L'eau coule ensuite au dehors, après s'être rassemblée dans une troisième gouttière inférieure dont le tuyau de décharge est figuré en M.

T est un thermomètre coudé qui donne la température du moût; son réservoir est protégé par la douille *dd* percée de trous; *r* est un robinet de vidange pour l'eau de la gouttière qui sert au couvercle de fermeture hydraulique.

R, V sont des robinets ou ouvertures de vidange pour les liquides du cylindre et de son dépôt.

Laissons l'appareil se refroidir librement ou faisons arriver de l'eau froide par la douille E soudée au couvercle, eau que celle-ci laisse écouler en nappe sur ce couvercle par les ouvertures *ee* pratiquées à la base de la douille élargie en forme d'entonnoir renversé. Dans l'un et l'autre cas, l'air extérieur rentrera dans l'appareil, sous le couvercle par le long tube *gfedca*, pendant toute la durée du refroidissement. Cet air sera pur, c'est-à-dire dépouillé de ses poussières comme il arrive pour nos ballons à deux cols, surtout si l'on a soin de mettre à l'extrémité du tube *g* un petit tampon de coton ou d'asbeste.

Les expériences que j'ai faites avec cet appareil ont prouvé que le moût de bière, liquide si altérable, peut être conservé par cette disposition (au contact de l'air, puisque le tube *g* est ouvert), aussi longtemps qu'on le désire, pendant des semaines et des mois sans éprouver la moindre altération de maladie; que les feuilles et les cônes de houblon aient été introduits avec le moût chaud ou qu'on les ait retenus sur un filtre, cela importe peu, le résultat est le même. Par contre, une fuite à l'appareil, le mélange d'eau extérieure ordinaire avec le moût pendant le

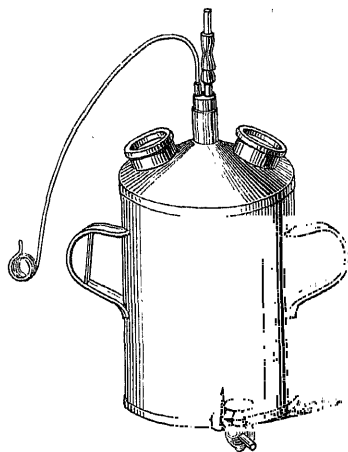
refroidissement, donnent promptement une altération de ce dernier qui se charge de vibrions ou ferment butyrique, de levûre lactique... et son goût prend une saveur détestable. A moins de le vouloir, c'est-à-dire de mal opérer, l'eau de la gouttière n'amène aucune cause d'altération si l'on ne fait rien pour la projeter dans l'intérieur de la cuve. Elle pourrait même entrer en putréfaction sans que les organismes qui y seraient contenus pénétrassent dans le moût de la cuve. Enfin les appareils peuvent avoir des dimensions quelconques; on a opéré sur des cuves d'une capacité de 12^{hl} avec autant de facilité et de sûreté que sur des appareils de 1^{hl}.

Le refroidissement en présence du gaz acide carbonique est facile, si l'on adapte à la seconde douille D du couvercle un tube tombant, pareil au tube *acdefg*. Par ce tube, ou par son symétrique, on fait arriver le gaz à sa sortie d'un appareil qui le dégage, ou d'un gazomètre qui en est rempli, ou d'une autre cuve à bière en fermentation.

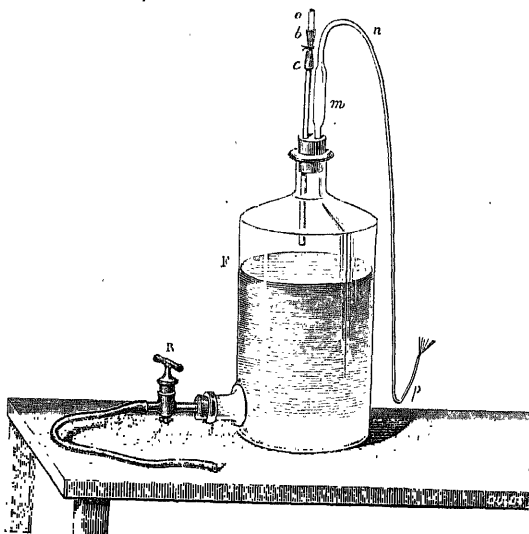
Il n'est pas nécessaire que le refroidissement se fasse dans la cuve de fermentation. On peut l'opérer à part dans des caisses plus ou moins profondes, dans des serpentins entourés d'eau froide, dans des réfrigérants quelconques, pourvu que les conditions de pureté soient remplies et que l'écoulement du moût refroidi se fasse dans ces mêmes conditions. Les jets de vapeur, déjà fort utilisés pour le nettoyage des tuyaux dans les brasseries, sont ici du meilleur usage.

La mise en levain peut s'effectuer de diverses manières. Un ballon à deux cols, d'une capacité totale de 200 à 300 centimètres cubes, dans lequel on a fait fermenter seulement 100 centimètres cubes de moût de bière, peut suffire pour un appareil d'un hectolitre, quoique ce ballon ne contienne que 1 à 2 décigrammes de levûre. L'emploi de quantités aussi faibles de levûres dans les procédés actuels de la brasserie aurait les résultats les plus désastreux. La fermentation deviendrait forcément lactique et butyrique, parce que, les moûts et les levains de l'industrie étant toujours souillés de germes étrangers, ceux-ci auraient le temps de se développer dans les premières vingt-quatre ou quarante-huit

heures pendant lesquelles le peu de levûre ajoutée aux cuves ne ferait que commencer son développement. C'est précisément pour éviter ces fermentations secondaires que le brasseur met en levain avec de grandes quantités de levûre. Après l'agitation du moût et de la levûre, agitation que le brasseur pratique toujours à la suite de la mise en levain, il existe en chaque endroit de la masse une foule de cellules de levûre qui s'emparent de l'oxygène dissous, bourgeonnent activement, utilisent à leur profit les aliments les plus assimilables et entravent la vie des germes des ferments de maladies. Dans le procédé nouveau que j'analyse en ce moment, les choses sont tout autres : le moût est pur, le levain est pur. On ne déposerait, à la rigueur, qu'une seule cellule de levûre que la vie de celle-ci suffirait à provoquer la fermentation alcoolique et à transformer le moût en bière, sans qu'on eût à craindre aucun autre développement parallèle de quelque

Fig. 78.

nature qu'il fût. En un mot, le nouveau procédé se prête à des mises en levain par des quantités de levûre aussi petites qu'on peut le désirer. Néanmoins, il est inutile de les exagérer par défaut, afin de ne pas retarder trop les débuts de la fermentation.

Pour des appareils de 5, 6,..., 10 hectolitres, on peut mettre en levain avec des flacons de 4 à 6^{lit} (*fig.* 79), ou avec des bidons en cuivre étamé à l'intérieur, de 10 à 15^{lit} de capacité totale, munis, à leur partie supérieure conique, de regards en verre (*fig.* 78). Le vase est rempli à la moitié, aux deux tiers.... de son volume, de moût de bière. Pour cet usage, il est bon d'avoir toujours du moût de bière conservé en bouteilles par la méthode d'Appert. On place le bouchon muni de ses tubes disposés comme l'indique la *fig.* 79 : *ab* est un bouchon de verre qui ferme le tube de caoutchouc *bc*; *mnp* est un tube de verre effilé ou mieux un tube de cuivre. Le robinet R étant fermé, on plonge complétement le flacon dans un bain-marie après avoir fixé à l'extrémité du tube sinueux un long tube de caoutchouc qui sort au dehors du bain et met l'intérieur du

Fig. 79.

flacon en communication de pression avec l'air extérieur. Si le tube *mnp* est en cuivre on peut profiter de sa flexibilité pour le relever et placer au dehors son extrémité libre. On porte

peu à peu l'eau du bain-marie à 100°, et on la maintient un quart d'heure ou une demi-heure à cette température. Les bidons en cuivre sont plus commodément placés sur un réchaud à gaz. Ils se prêtent à la même manipulation que les ballons à cols sinueux.

Des vases ainsi préparés peuvent rester indéfiniment dans un laboratoire, dans une pièce quelconque d'une brasserie, sans que le moût éprouve la moindre altération. La couleur du moût se fonce en brun de plus en plus par une oxydation directe, d'ordre purement chimique, mais il ne se manifeste aucune altération de maladie.

Quelques jours avant la mise en levain d'un appareil d'un ou plusieurs hectolitres, on met en levain un de ces flacons ou bidons (1). A cet effet, on passe la flamme de la lampe à alcool sur les tubes *cba*, *mnp*, pour brûler les poussières qui pourraient passer de l'extérieur à l'intérieur au moment où on enlève le bouchon *ab*, et, à l'aide d'un long tube de verre droit avec lequel on vient de faire une prise de levûre pure dans un ballon ou vase quelconque qui contient de la bière pure en fermentation, on laisse tomber dans le flacon quelques gouttes de cette bière avec la levûre qu'elle tient en suspension; puis on replace, flambé de nouveau, le bouchon *ab*. En un ou deux jours ordinairement, la levûre est déjà développée assez dans le flacon pour que la fermentation s'y déclare. On peut aller plus vite encore, en introduisant dans le flacon ou dans le bidon tout le contenu d'un de nos ballons à deux cols. A cet effet, on engage la tubulure droite du ballon dans le caoutchouc *bc* et l'on soulève le ballon dont le liquide coule dans le flacon ou bidon. Une ma-

---

(1) D'après ce qui a été dit au Chapitre V, paragraphe des levûres aérobies, les levûres basses, pour être conservées dans leur état de levûres basses, doivent être soumises à des cultures souvent renouvelées, tous les quinze jours en hiver, tous les dix jours en été, c'est-à-dire qu'on les remet en culture, après chacun de ces intervalles. De cette manière, on n'a pas à craindre la formation des levûres aérobies qui, comme je l'ai dit antérieurement, pourraient avoir l'inconvénient de transformer les levûres basses en levûres hautes.

nœuvre analogue permet d'introduire par une des douilles du couvercle, dans les appareils à fermentation, le contenu des flacons ou des bidons lorsqu'ils sont en pleine fermentation, ou après leur fermentation. Dans ce but, on fait communiquer le robinet R (*fig.* 79), à l'aide d'un tube de caoutchouc, avec un tube qui traverse un bouchon fixé à l'une des douilles du grand appareil à bière. Tout cela se fait en beaucoup moins de temps que j'en mets à le décrire. Sans être même exercé aux manipulations chimiques, il suffit d'avoir assisté à quelques-unes de ces opérations pour être en mesure de les reproduire avec exactitude et sûreté, surtout si l'on est bien pénétré des principes, d'ailleurs fort simples, que j'ai exposés.

Lorsque certaines parties des appareils ont pu recevoir les poussières de l'air, comme la tubulure extérieure d'un robinet, un tube de caoutchouc ..., ces pièces, avant de servir, sont mises à bouillir dans de l'eau ou arrosées d'eau bouillante ou flambées à la flamme de la lampe à alcool pour détruire les germes mêlés aux poussières qui recouvrent ces objets.

Le contact du gaz acide carbonique avec le moût pendant le refroidissement supprime l'oxydation de ce moût jusqu'au moment de la mise en levain, en sorte que le développement de la levûre a lieu hors de l'influence du gaz oxygène. Nous savons que ces conditions exigent une mise en levain avec une levûre très-jeune, en voie de bourgeonnement actif, comme en peut fournir une fermentation commençante. Malgré cette précaution, le développement de la levûre dans ces conditions est fort lent et les fermentations durent de quinze à vingt-cinq jours lorsque, toutes choses égales, elles s'accompliraient en huit à douze jours avec un moût aéré. C'est là un inconvénient. Il y en a un autre plus sérieux peut-être : la clarification est plus lente et plus difficile que pour les bières faites avec des moûts aérés. Ces inconvénients sont compensés par des avantages dans la qualité de la bière. Celle-ci a plus de force, plus de ce qu'en brasserie on appelle la *bouche* de la bière, et l'arome du houblon est conservé dans des proportions inconnues pour les

bières actuelles. En outre, la levûre de dépôt au fond des cuves de fermentation est bien moins active, plus vieillie, d'un plus difficile rajeunissement que celle qui se forme dans les moûts aérés. Cette circonstance, qu'on jugerait défavorable si la levûre devait être employée ultérieurement comme levain, offre l'utilité de donner une bière qui, après son soutirage, éprouve lentement et péniblement la fermentation secondaire (1). Un tel genre de bière est plus propre que la bière ordinaire à supporter les transports prolongés, sans faire subir aux tonneaux des pressions considérables, et s'il s'agit de bières mises en bouteilles, sans donner un fort dépôt ni une mousse trop abondante au moment du débouchage. C'est qu'une levûre est d'autant plus active, d'autant plus prête pour une prompte multiplication et une prompte action comme ferment que le moût au sein duquel elle a pris naissance était plus aéré, tandis qu'une levûre formée sans air vieillit facilement et peut même périr sous son liquide de fermentation quand celui-ci n'a pas le contact de l'air. La vie de la levûre, en d'autres termes, est plus limitée quand elle n'a pas subi l'action de l'oxygène pendant sa formation.

Le moût qu'on fait refroidir en grande épaisseur et qui ne touche à l'air atmosphérique que par sa surface de niveau se comporte à peu de choses près comme le moût refroidi sous une atmosphère de gaz acide carbonique, parce que l'oxygène de l'air pénètre très-lentement dans le moût en repos. Les premières couches de niveau seulement dissolvent ce gaz, tandis que la masse en est privée. Dans des expériences poursuivies sur une cuve contenant 70 centimètres de hauteur de moût, et

(1) Les brasseurs ont eu l'occasion d'observer que, quelquefois, sans cause apparente, une levûre devient tout à coup inactive ou qu'une fermentatiou s'arrête. Vraisemblablement ces accidents ont la même explication que les faits dont nous parlons. Qu'un moût de bière n'ait pas été aéré, ou qu'il ait été privé d'oxygène par un commencement de multiplication d'organismes microscopiques, la levûre formée dans ce moût deviendra un levain très-médiocre, et la fermentation pourrra s'arrêter en chemin ou dès son début. L'aération de la levûre et du moût serait le meilleur remède en telle occurrence.

munie d'un robinet qui permettait de prélever celui-ci jour par jour, à 35 centimètres de la hauteur totale, on a trouvé qu'au bout de huit jours il n'y avait pas encore trace de gaz oxygène dissous à cette hauteur. Il est même probable que, vu la lenteur de la diffusion de l'oxygène d'une part, et de l'autre la combinaison que cet oxygène peut contracter avec certains principes du moût, il faudrait un long temps pour que du moût en repos et en certaine épaisseur se saturât d'oxygène dissous dans toute sa masse. Or le refroidissement en épaisseur est propre aux cuves figurées page 328. Néanmoins le seul fait d'une aération possible par la surface de niveau pendant le refroidissement au contact de l'air pur suffit pour exercer plus tard une influence sur le levain, pour donner plus de jeunesse à la levûre de dépôt, comparativement à ce qui se passe quand le moût est refroidi en présence du gaz acide carbonique. On est particulièrement frappé de la différence des résultats quand, dans les deux cas, on suit au microscope le développement de la levûre dans les premiers jours après la mise en levain.

L'influence de l'air sur la fermentation est considérable. Dans les procédés ordinaires de la brasserie les fermentations seraient comme impossibles et dans tous les cas des plus défectueuses si le moût n'arrivait pas aéré dans les cuves par son passage sur les bacs refroidisseurs, où l'aération est en proportion de la faible épaisseur du liquide : comme les moûts et les levains sont impurs, associés à des germes de ferments étrangers, ceux-ci auraient le temps de germer dans les cuves pendant le retard que le défaut d'aération du moût apporterait dans le développement de la levûre. Je sais que divers inventeurs ont proposé de supprimer les bacs refroidisseurs. Je suis convaincu qu'ils se seront bientôt aperçus de la mauvaise marche des fermentations. Prenant en considération les faits que j'ai publiés (1) sur le développement de la levûre en présence de l'air

(1) Pasteur, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. LII, p. 1260; et *Études sur le vin*, 2e édition, p. 277.

et sur son peu d'activité dans les milieux non aérés, ils auraient dû joindre à l'innovation de la suppression des bacs celle d'une aération ultérieure qui aurait réparé le mal. L'emploi des bacs est nécessaire dans les procédés actuels.

L'action de l'air sur la vitalité de la levûre peut être prouvée de mille façons. Voici une expérience que j'ai faite bien souvent et dont les résultats sont surprenants. Une fermentation est en marche : soutirez, même rapidement, le liquide et reversez-le aussitôt dans la cuve. Au bout d'une heure au plus, vous constaterez un accroissement marqué de la fermentation, accusé par un dégagement plus abondant de gaz acide carbonique. Cette expérience est surtout facile à faire avec l'appareil à fermentation que j'ai décrit tout à l'heure ; car on peut adapter un compteur à gaz au tube de dégagement *abcdefg* et comparer le nombre de litres produits avant et après le transvasement dont il s'agit. Le moindre changement physique dans l'écoulement du liquide fermentant au moment du soutirage modifie l'effet en question. Le diamètre du jet, la hauteur d'où il tombe, son éparpillement plus ou moins grand dans sa chute ou au fond du baquet, tout influe. Enfin, comme on doit s'y attendre d'après ces résultats mêmes, des modifications correspondantes ont lieu dans les cellules de levûre qui ont subi le contact de l'air. Elles deviennent plus fermes d'aspect et de contour, leur plasma intérieur est plus nourri, plus jeune, plus translucide, moins vacuolaire. Les granulations moléculaires sont moins visibles. Pour un certain foyer elles disparaissent ; pour un autre, au lieu d'apparaître en points noirs, elles deviennent comme des points brillants à peine sensibles. Le bourgeonnement recommence s'il était suspendu ; enfin tout concourt à prouver, et, en ayant la levûre sous les yeux, on en est persuadé mieux qu'on ne peut le dire, que la vie des cellules est plus accentuée, que le travail de nutrition est plus actif après qu'elles ont subi le contact de l'oxygène de l'air et qu'elles ont absorbé de ce gaz en plus ou moins grande quantité.

Dans les conditions ordinaires de la fabrication, où l'air atmosphérique est apporté en quantités très-variables, soit par le

moût qui en tient plus ou moins en dissolution, soit par la diffusion à la surface des cuves, les mêmes cellules de levûre vivent tour à tour sans air ou avec de l'air. Au commencement, elles absorbent tout l'oxygène dissous et se multiplient sous l'influence de cette absorption; puis, après son utilisation et les assimilations qui en résultent, elles en sont privées. Leur vie, alors, se poursuit sans oxygène, et si la cuve était fermée, la fermentation s'achèverait dans ces conditions, quoique plus lentement. Si elle est ouverte, une petite quantité d'air se diffuse dans la couche, sans cesse en mouvement, du gaz acide carbonique de la surface et continue à entretenir la vitalité des cellules.

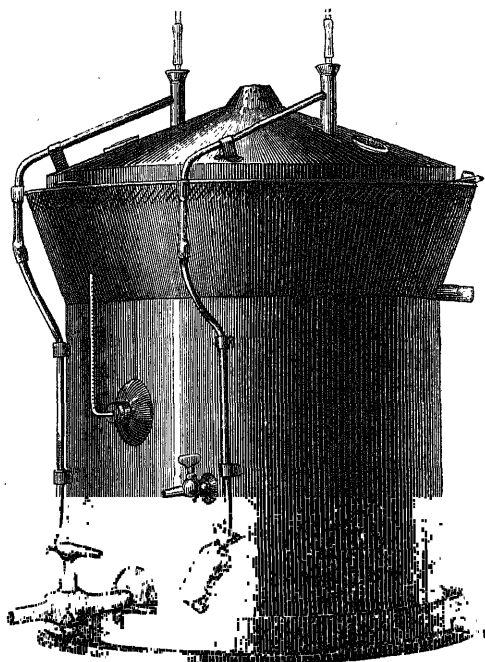
Il est intéressant d'observer que, dans la pratique des brasseries, il existe plusieurs usages empiriques dont la raison d'être est certainement tout entière dans l'influence de l'aération du moût ou de la bière sur la marche de la fermentation. Dans beaucoup de brasseries, j'ai vu mettre en levain de la manière suivante : l'ouvrier, après avoir délayé la levûre dans plusieurs fois son volume de moût, verse de haut tout le liquide trouble d'un baquet dans un autre, puis, de celui-ci dans le premier, et ainsi de suite un grand nombre de fois, jusqu'à ce que les deux baquets soient remplis par la mousse et l'air emprisonné dans celle-ci. Dans certaines brasseries de Londres, au-dessus de la cuve guilloire, à 3 ou 4^{m} de hauteur, j'ai vu un seau suspendu à l'aide d'une poulie et que l'ouvrier peut, au moyen d'une corde, descendre dans la cuve et remonter à volonté, en lui imprimant un mouvement de bascule qui agite la surface du liquide et l'aère dans sa chute.

L'usage même de la cuve guilloire, le transvasement du moût de cette cuve dans des tonneaux, ont en grande partie pour effet d'aérer la bière et la levûre, afin de donner à celle-ci plus de jeunesse et d'activité.

La reprise de la fermentation dans les foudres, à la suite du soutirage des cuves dans les brasseries à fermentation basse, est due principalement, suivant moi, à l'aération de la bière au moment du soutirage, et il faut que le brasseur sache bien que,

dans ce soutirage, tout importe : il n'est pas indifférent que la bière passe dans les foudres, tombant de haut ou conduite par un tube jusqu'au fond, qu'elle passe directement dans les foudres ou qu'elle y soit versée par des seaux, qu'elle y arrive en jet de petit ou de gros diamètre; car, à tous ces modes, correspondent des quantités d'air différentes, introduites dans la bière.

J'ai imaginé une disposition simple, pour amener au contact du liquide fermentant des proportions variables d'air atmosphérique. Elle est figurée dans l'appareil ci-joint. Au lieu d'un seul tube tombant, pour l'entrée et la sortie des gaz, il y en a deux pareils, qui s'ouvrent chacun dans une des douilles du

Fig. 80.

couvercle. A l'extrémité de l'un d'eux, on adapte une sorte de manchon ou sac composé d'une cage cylindrique en toile mé-

tallique, sur laquelle on applique une couche de coton cardé, recouverte d'un sac de mousseline. Ce filtre à air est destiné à retenir les poussières. Lorsque la fermentation est commencée dans l'appareil, il suffit de presser, ne fût-ce qu'une seconde, le caoutchouc qui joint le tube soudé au couvercle, avec le tube vertical que le manchon termine, pour que le gaz acide carbonique sorte ensuite, sans s'arrêter, par le tube de l'autre douille, et que de l'air rentre à travers le filtre de coton. L'air est appelé continûment pendant tout le temps que dure la fermentation, par l'effet de l'écoulement du gaz carbonique et cela sans avoir même la précaution d'augmenter la puissance du siphon, en allongeant plus que l'autre le tube de départ de ce gaz (1).

On comprend, d'ailleurs, qu'on puisse, soit par ce dernier moyen, soit par le diamètre des tubes, faire varier les conditions de cette circulation d'air dans l'appareil, à la surface de la bière.

§ II. — Procédé de dosage de l'oxygène en dissolution dans le moût de bière.

L'emploi du gaz acide carbonique et le refroidissement du moût, au contact de ce gaz ou au contact de quantités très-limitées d'air pur, n'ont rien de nécessaire dans l'application du nouveau procédé. Une seule chose importe essentiellement, c'est la *pureté* des gaz, en présence desquels le moût est refroidi et manipulé. Si donc il peut être utile d'aérer le moût, soit avant, soit pendant la fermentation, on pourra le faire, à la seule condition que cet air n'apporte pas de germes de maladie, propres à se développer dans la bière soit pendant soit

(1) Je dois faire remarquer, en passant, que le système de gouttières de l'appareil ci-dessus est plus simple que celui qui a été décrit précédemment, p. 328. L'eau qui tombe sur le couvercle s'écoule, après que la gouttière est remplie, par une couronne de rainures (inclinées afin que les filets d'eau qui en sortent se rencontrent les uns les autres), de manière à former plus facilement une nappe sur la surface extérieure de la cuve cylindrique.

après la fermentation. Mais la question de l'aération du moût, n'est pas aussi simple qu'on pourrait se l'imaginer au premier aperçu. Une observation fort simple prouve que le moût de bière ne peut pas être impunément oxydé, sans précaution, par son exposition à l'air, même en dehors de toute considération des germes de maladie que cet air peut contenir. Il est aisé de se convaincre, en effet, que le moût de bière achevé a un goût et un arome prononcés de houblon, avec une saveur sucrée, suivie dans l'arrière-gorge d'une grande amertume finale. En le dégustant sous cet état, on se rend compte aisément qu'un pareil liquide, après fermentation, doit constituer une boisson précieuse, aussi saine qu'agréable. Or tout ce que cette sensation d'ensemble, que le moût exerce sur le palais, a de vif, d'agréable et de relevé, tant par le parfum du houblon que par l'amertume, disparaît pour ainsi dire, d'une manière absolue, lorsque le moût est exposé pendant un temps suffisant, au contact de l'air, soit à chaud, soit à froid. L'expérience est facile à faire dans nos ballons à deux tubulures où nous pouvons conserver, sans crainte d'altération, le moût au contact de l'air pur. L'oxygène de l'air se combine avec les principes que le houblon a introduits dans le moût, et celui-ci se transforme peu à peu par l'effet de cette oxydation en une tisane sucrée, sans odeur, où l'amertume elle-même se trouve détruite ou masquée. En d'autres termes, le moût s'affaiblit et s'évente, comme s'éventent la bière et le vin, et tous les liquides fermentés, ainsi que tous les moûts naturels ou artificiels, qui servent à les produire. Il résulte de ce qui précède que le moût de la bière, et la bière en travail de fabrication ou achevée, ne peuvent subir que discrètement l'action de l'air atmosphérique. Dès lors, s'il est utile, d'après ce que nous avons dit précédemment, qu'il faille donner au moût de l'oxygène pour faciliter sa fermentation et nourrir la levûre, il importe, d'autre part, que la quantité n'en soit pas exagérée; autrement, on pourrait nuire à la qualité de la bière, particulièrement à ce qu'on est convenu d'appeler *sa bouche*, sa force apparente, qui est presque tout à fait indépendante de la proportion d'al-

cool. La force de la bière est liée à l'existence de ces principes mal connus auxquels je faisais allusion tout à l'heure, que le houblon introduit dans le moût, par suite dans la bière, mais dont l'oxygène de l'air modifie si facilement les propriétés et la vigueur de sensation.

Nous avons donc à rechercher dans quelle mesure l'air intervient dans les procédés de fabrication, et si, par les procédés actuels, la proportion de l'oxygène actif n'est pas exagérée. L'étude à laquelle nous nous trouvons conduits exige la connaissance des quantités d'oxygène que le moût peut tenir en dissolution ou absorber par combinaison directe. Cette étude a été heureusement rendue assez facile, par un procédé rapide de dosage de l'oxygène en dissolution dans des liquides de nature variée, procédé que M. Schützenberger a imaginé en 1872. Dès que ce procédé fut connu, je priai M. Raulin, attaché à mon laboratoire en qualité de directeur adjoint, de l'appliquer au dosage de l'oxygène dans le moût, ce qu'il a fait avec sa sagacité ordinaire, en en modifiant la pratique, de manière à le rendre à la fois plus sûr et plus expéditif.

Le procédé de M. Schützenberger consiste essentiellement dans l'emploi d'un sel, dont ce chimiste a le premier fait connaître les propriétés, qu'il a nommé *hydrosulfite de soude* et qu'il obtient, en faisant agir à l'abri de l'air la limaille de zinc sur une solution de bisulfite de soude.

L'hydrosulfite de soude S^2O^2, NaO, HO, isomère de l'hyposulfite de soude, ne diffère du bisulfite que par $2^{éq}$ d'oxygène. En présence de l'oxygène libre, il absorbe ce gaz instantanément et se change en bisulfite. L'eau est immédiatement dépouillée en présence de ce sel de l'oxygène qu'elle tient en dissolution. D'un autre côté, il existe des matières colorantes, telles que le bleu d'aniline soluble de M. Coupier, qui sont instantanément décolorées par l'hydrosulfite de soude et qui résistent à l'action du bisulfite. Qu'à un volume déterminé d'eau, un litre par exemple, bien purgé d'air et légèrement teinté au moyen de ce bleu Coupier, on ajoute, en évitant l'accès de l'air, de l'hydrosulfite de soude, on observe que quelques gouttes suf-

fisent pour amener la décoloration. Si, au contraire, l'eau est aérée, la décoloration ne se produit que lorsqu'on a ajouté assez d'hydrosulfite pour absorber l'oxygène dissous.

Le volume du réactif nécessaire est proportionnel à la quantité d'oxygène dissous dans l'eau; et il suffit, pour rendre le procédé sensible, d'employer un hydrosulfite assez étendu pour que 10^{cc}, par exemple, correspondent à peu près à 1^{cc} d'oxygène. Si le réactif était susceptible de se conserver, il ne resterait plus qu'à déterminer, une fois pour toutes et directement, le volume d'oxygène que peut absorber un volume connu de la liqueur; mais, en raison même de sa grande altérabilité à l'air, il est nécessaire de titrer la liqueur au moment de s'en servir. On y arrive facilement de la manière suivante. D'après les observations de MM. Schützenberger et de Lalande, l'hydrosulfite décolore une solution ammoniacale de sulfate de cuivre, en ramenant l'oxyde cuivrique à l'état d'oxyde cuivreux; le sulfite et le bisulfite sont sans action, tant qu'il reste un excès d'ammoniaque.

On prépare donc une solution de sulfate de cuivre fortement ammoniacale, contenant une quantité de cuivre telle que 10^{cc} de cette liqueur correspondent, au point de vue de l'action sur l'hydrosulfite, à 1^{cc} d'oxygène. Le calcul par équivalents fournit le nombre que l'expérience directe a vérifié (1).

La modification apportée par M. Raulin a pour but d'éviter les ennuis qui peuvent résulter de l'altération des liqueurs titrées avec le temps, ainsi que les erreurs pouvant provenir de l'acidité du moût : M. Schützenberger a remarqué, en effet, que les quantités d'hydrosulfite de soude correspondant à un même volume d'oxygène varient avec l'acidité du milieu, anomalie que cet habile chimiste explique par la formation de l'eau oxygénée inégalement stable dans les milieux diversement acides.

Au lieu de doser la solution titrée d'hydrosulfite avant chaque opération, on prend la solution telle quelle, et l'on en dé-

---

(1) SCHUTZENBERGER, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. LXXV, p. 880.

termine le titre en la faisant agir sur un volume connu d'eau pure saturée d'oxygène à une température déterminée. Les tables de solubilité de l'oxygène dans l'eau donnent le volume exact d'oxygène sur lequel a agi le volume employé et mesuré d'hydrosulfite. Une brusque agitation de l'eau avec un excès d'air dans un flacon bouché pendant une minute environ suffit, d'après M. Bunsen, pour saturer l'eau au maximum, à la température à laquelle on opère.

Pour les essais sur le moût de bière, on doit avoir :

1° Un flacon A de 2^{lit}, contenant de l'hydrosulfite de soude *saturé* (1), à un degré de concentration tel que $2^{cc},5$ de cet hydrosulfite suffisent à peu près à absorber l'oxygène de 50^{cc} d'eau saturée d'air à la température ordinaire ;

2° Un flacon B de 2^{lit} contenant une liqueur de carmin d'indigo telle que les 50^{cc} de cette liqueur soient décolorés par 20^{cc} d'hydrosulfite environ (cette solution contient environ 20^{gr} de carmin d'indigo du commerce par litre) ;

3° Un appareil C producteur d'hydrogène ;

4° Un appareil à expériences composé d'une burette D graduée en dixièmes de centimètre cube et d'un flacon à trois tubulures E ;

5° Un flacon F de 100^{cc} environ, muni d'un tube droit

---

(1) M. Schützenberger appelle hydrosulfite *saturé* une dissolution de ce sel préparée comme il suit, ou à très-peu près :

Dans une solution de bisulfite de soude du commerce, on fait passer un courant d'acide sulfureux jusqu'à refus.

On introduit 100^{cc} de cette dissolution avec 30^{gr} de poudre de zinc dans un petit flacon de façon à le remplir entièrement ; on bouche et l'on agite vivement le mélange pendant un quart d'heure environ.

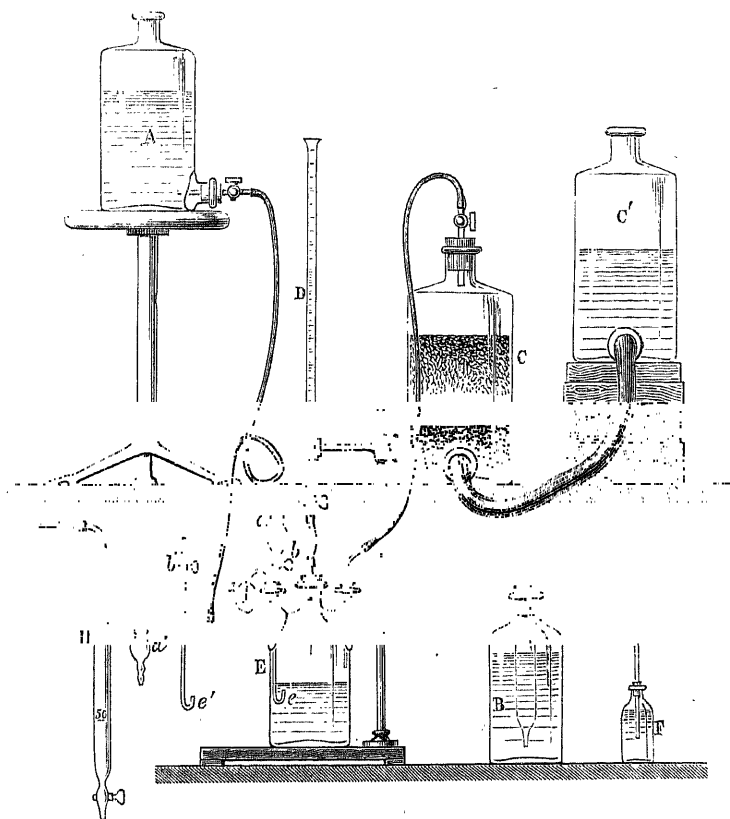
On déverse, enfin, le contenu de ce flacon dans un grand flacon de 2^{lit} rempli d'eau, et contenant un lait de chaux, préparé en délayant dans l'eau au moment de s'en servir 100^{gr} de chaux vive. On secoue fortement le tout pendant quelques minutes et on laisse déposer. La liqueur surnageante s'éclaircit très-rapidement. C'est l'hydrosulfite.

Obtenu ainsi, il est trop concentré ; on le décante au siphon dans un flacon de 2^{lit} à moitié rempli d'eau.

Ce sel absorbe l'oxygène gazeux avec beaucoup moins de rapidité que l'hydrosulfite acide ; les liqueurs conservent donc beaucoup plus longtemps leur titre, si on les conserve dans des flacons bien bouchés.

divisé en dixièmes de centimètre cube, et contenant une dissolution ammoniacale telle que dix gouttes environ saturent l'acide de 50^{cc} de moût.

Pour opérer on agite dans une fiole de 1^{lit} à peu près 150^{cc} d'eau distillée, à la température ambiante pendant une minute, ce qui la sature d'air; on en prend la température.

Fig. 81.

Si l'on visait à une grande précision, il conviendrait de noter la pression barométrique.

On introduit dans le flacon E environ 50^{cc} de la liqueur

d'indigo, 200^cc^ d'eau vers 60°, et l'on remplit le tube *e* jusqu'en *b* d'eau saturée d'air; puis on chasse l'air du flacon E par un courant d'hydrogène.

On fait passer exactement la liqueur bleue du flacon à la teinte jaune en faisant tomber dans le flacon E, goutte à goutte, l'hydrosulfite dont on a rempli la burette D.

On verse alors 50^cc^ de l'eau distillée saturée d'air dans l'entonnoir *a*, et l'on fait passer cette eau dans le flacon : la teinte bleue reparaît. On ramène exactement le liquide à la teinte jaune. Soit n le nombre de divisions de la burette représentant le volume d'hydrosulfite employé.

On répète sans retard cette dernière opération avec 50^cc^ du moût dont on veut doser l'oxygène, après avoir mis dans l'entonnoir *a* un nombre de gouttes de la solution ammoniacale suffisant pour neutraliser l'acide du moût : soit n' le nombre de divisions d'hydrosulfite employé.

On renouvelle l'expérience avec 50^cc^ d'eau saturée : soit n'' le nombre obtenu (1).

Le rapport de la quantité d'oxygène dissous dans le moût à la quantité d'oxygène contenue dans le même volume d'eau saturée d'air, à la température t et sous la pression Π, sera $\dfrac{n'}{\frac{n+n''}{2}}$, et il suffira dans bien des cas de connaître ce rapport.

Si l'on a besoin de déduire de ce rapport la quantité d'oxygène dissous dans un volume V du même moût, il suffira de multiplier ce rapport par la quantité d'oxygène contenue dans l'eau saturée d'air à la température t et à la pression Π, sous le même volume, problème facile à résoudre si l'on connaît les coefficients de solubilité de l'oxygène dans l'eau aux diverses températures. Or ces coefficients sont donnés, pour les températures ordinaires, par la Table suivante, qui n'est autre que

(1) Pour peu que le moût ou la liqueur à essayer ne soit pas parfaitement neutre, les nombres n et n'' diffèrent; si elle est acide $n'' < n$, si elle est alcaline $n < n''$; ce serait même là un moyen très-exact de doser l'acidité ou l'alcalinité d'un liquide coloré quelconque.

celle de Bunsen, dont on n'a conservé que les trois premiers chiffres.

Températures.	Coefficients.	Températures.	Coefficients.
0°........	0,040	11°........	0,032
1.......	0,040	12.......	0,031
2........	0,039	13.......	0,031
3........	0,038	14.......	0,030
4........	0,037	15........	0,030
5........	0,036	16........	0,029
6........	0,035	17.......	0,029
7........	0,035	18.......	0,029
8........	0,034	19.......	0,028
9........	0,033	20........	0,028
10........	0,033		

La première condition pour qu'on puisse compter sur l'exactitude de ce mode d'opération, c'est qu'un liquide agité à l'air pendant une minute, comme il a été dit plus haut, se sature exactement d'oxygène; c'est en effet ce qui a lieu : en dosant l'oxygène de diverses portions d'un liquide ainsi traitées, on a toujours obtenu les mêmes nombres à $\frac{1}{50}$ près de leur valeur.

A la vérité, l'oxygène dissous en quantité variable dans le liquide de la partie du tube *eb*, ainsi que l'oxygène absorbé pendant la manipulation du liquide à l'air, constituent autant de causes d'erreur. Mais l'expérience a prouvé que ces causes d'erreur sont insignifiantes tant qu'on opère sur un liquide dont l'aération n'est pas très-éloignée du point de saturation, et dans lequel le coefficient de solubilité de l'oxygène ne s'éloigne pas trop du coefficient de solubilité de ce gaz dans l'eau : dans ces conditions, on a toujours trouvé pour un même liquide et l'eau distillée saturée, placés dans les mêmes circonstances, un rapport constant à $\frac{1}{40}$ près de sa valeur.

Si, au contraire, on opère sur un liquide qui ne dissout qu'une faible proportion d'oxygène, ces causes d'erreur peuvent avoir une grande influence, et il faut les supprimer : on traite le liquide soumis à l'expérience, à l'abri de l'air, en le

faisant passer directement par aspiration du vase qui le contient dans la pipette H portant une jauge de 50^{cc}, et de celle-ci dans le flacon E en mettant cette pipette à la place de la boule *a*; enfin, avant de placer la pipette, on fait écouler par pression dans le tube *eb* une petite portion du liquide du flacon amené exactement à la teinte jaune, de façon à éviter la cause d'erreur provenant de l'air dissous dans le liquide de ce tube.

On peut encore faire écouler directement le liquide dont on veut doser l'oxygène du vase qu'il contient dans le flacon E; le reste des opérations s'exécute comme il a été dit plus haut.

C'est par cette méthode qu'on a dosé l'oxygène dissous à saturation dans le moût de bière. Voici les principaux résultats obtenus par M. Raulin :

1° Aux diverses pressions, le rapport des quantités d'oxygène dissous dans l'eau et dans le moût est constant, toutes choses égales d'ailleurs :

Ce rapport a été trouvé égal à 1,20 pour du moût et de l'eau saturée d'air à la pression ordinaire, et à 1,24 pour du moût et de l'eau saturée dans l'oxygène pur;

2° Le rapport du coefficient de solubilité de l'oxygène dans l'eau au coefficient de solubilité de l'oxygène dans le moût est à peu près constant aux diverses températures de l'atmosphère; cependant il augmente légèrement quand la température diminue.

Ce rapport a été trouvé égal à

Températures.	
26°	1,20
19,5	1,25
4	1,37

Un autre moût a donné les résultats suivants :

Températures.	
9°	1,15
21	1,10
25	1,07

3° Le rapport des quantités d'oxygène dissoutes dans l'eau à celles dissoutes dans le moût augmente avec la concentration du moût.

En évaporant un même moût à divers degrés de concentration, et le saturant ensuite d'air à la même température, on a obtenu les nombres suivants pour le rapport en question :

Moût faible	1,06
Même moût évaporé à moitié	1,15
» réduit aux $\frac{2}{5}$	1,27
» » $\frac{3}{10}$	1,45
» réduit à $\frac{1}{6}$	1,96

4° Des moûts de diverses origines, mais ayant même densité et même température, saturés d'oxygène, contiennent toujours à très-peu près la même quantité de ce gaz.

Deux portions d'un même moût, agitées l'une à chaud, l'autre à froid avec de l'air, abandonnées ensuite à elles-mêmes pendant quelque temps, puis saturées d'air à la même température, ont donné le même nombre 1,22 comme rapport de l'oxygène de l'eau à celui du moût.

Divers moûts de même densité, saturés à la température de 15°, ont donné les rapports suivants :

Moût conservé dans un flacon avec de l'air pendant 1 an et 7 mois. Rapport	1,140
Moût récemment préparé. Rapport	1,142
Moût conservé en bouteilles sans air pendant 1 an et 8 mois, aéré pendant 18 jours. Rapport	1,142
Moût évaporé à siccité et repris par l'eau. Rapport	1,126

5° La solubilité de l'oxygène dans le moût ne diffère pas beaucoup de la solubilité de l'oxygène dans de l'eau sucrée de même densité.

On a opéré sur une solution de sucre d'une part, et de l'autre sur du moût plus ou moins étendu d'eau, et à la même température de 11°. On a trouvé les nombres suivants pour le rapport de solubilité :

	Eau sucrée.	Moût.
Marquant 17°,9 Balling...	1,278	1,27
» 14 » ..	1,190	1,15
» 7 » ...	1,092	1,06

6° Il est facile de déduire des résultats précédents la formule générale qui donne le coefficient de solubilité de l'oxygène dans un moût quelconque, marquant B degrés au *Balling* et à la température t.

Des nombres du n° 2 il résulte que, de part et d'autre de la température de 15°, le rapport du coefficient de solubilité de l'oxygène dans l'eau au coefficient de solubilité du même gaz dans le moût varie d'environ 0,006 par chaque degré du thermomètre. Des nombres du n° 3 il résulte que le rapport dont je viens de parler varie d'environ 0,022 pour chaque degré du *Balling* de part et d'autre du 15ᵉ degré de l'instrument.

De sorte qu'en désignant par c le coefficient de solubilité de l'oxygène dans l'eau à t degrés, par c' celui de l'oxygène dans le moût marquant à 15° de température B au *Balling*, et à la température t, par X le rapport de $\frac{c}{c}$ à 15° du thermomètre et du *Balling*, on aura

$$\frac{c}{c'} = X + (B - 15)0,022 - (t - 15)0,006.$$

Or, en prenant avec soin le rapport $\frac{c}{c'}$ pour divers moûts, et appliquant la formule précédente, on a trouvé pour X une valeur moyenne égale à 1,16.

La formule définitive est donc

$$(1) \qquad \frac{c}{c'} = 1,16 + (B - 15)0,022 - (t - 15)0,006,$$

ou encore

$$(2) \qquad \frac{c'}{c} = 0,86 - (B - 15)0,016 + (t - 15)0,004.$$

Le coefficient c de solubilité de l'oxygène dans l'eau est donné par le tableau de la page 347.

§ III. — Sur la quantité d'oxygène existant en dissolution dans les mouts de brasserie (1).

Le moût de bière, au sortir de la cuve de houblonnage, reste exposé sur les bacs pendant un temps dont la durée varie suivant diverses circonstances, parmi lesquelles la température extérieure joue le principal rôle. La moyenne générale du temps de ce séjour est de sept à huit heures, pendant lesquelles le moût perd une partie de son volume en augmentant de densité ; il laisse en même temps déposer des matières protéiques et absorbe l'oxygène de l'air, soit à l'état de dissolution soit à l'état de combinaison.

Nous ne nous occuperons d'abord dans ce paragraphe que de l'oxygène en dissolution existant dans le moût à l'état de liberté, et constatable par le changement de teinte que son action communique à l'indigo blanc.

L'opération des bacs livre à la brasserie le moût sous deux états distincts au point de vue de la limpidité, le moût non filtré et le moût filtré ; la différence existe aussi au point de vue de la quantité d'oxygène dissoute. Le moût non filtré provient directement des bacs ; le moût à filtrer est mélangé à une partie du dépôt, descendu dans une cuve spéciale, réparti ensuite dans des surfaces filtrantes ordinairement en feutre, puis recueilli limpide dans un réservoir d'où on le distribue dans des cuves spéciales de fermentation. Ce moût s'écoulant par minces filets, goutte à goutte, doit naturellement, pendant sa chute, se charger d'une quantité d'oxygène plus grande que le moût ordinaire. Dans les bonnes brasseries, il est mis à fermenter à part et donne naissance à un levain plus ferme et mieux déposé que celui du moût non filtré ; quant à la fermentation, elle est, toutes choses égales d'ailleurs, plus rapide d'un jour ou d'un jour et demi que celle du moût ordinaire.

---

(1) Expériences faites à ma demande par MM. Calmettes et Grenet à Tantonville, dans la brasserie Tourtel.

La différence dans la quantité d'oxygène en dissolution dans les deux sortes de moût dont on vient de parler est d'autant plus grande que la température extérieure est plus basse; de l'été à l'hiver, elle peut s'élever du simple au double: c'est qu'en été un moût bouillant n'arrive qu'au bout de six à sept heures sur les bacs les mieux rafraichis à la température minima de 20°, et il passe alors dans un refrigérant. En hiver il parvient à cette température au bout de trois heures à peine et continue de se refroidir sur les bacs : pendant les deux ou trois dernières heures qu'on emploie à augmenter le refroidissement sur les bacs en même temps qu'à l'écoulement, le moût absorbe une notable quantité d'oxygène. En d'autres termes le moût de l'hiver reste plus longtemps dans les basses températures au libre contact de l'air.

Une autre circonstance se joint à celle du séjour sur les bacs pour accroître l'aération du moût; celui-ci descend dans les cuves de l'entonnerie par des tuyaux à large section plus ou moins coudés, et il entraîne dans sa chute par aspiration de grandes quantités d'air qui se mêlent par agitation continuelle avec lui. Cet effet de barbotage dans les tuyaux augmente sensiblement, surtout en hiver où la température du moût est plus basse, la proportion d'air dissoute dans le moût, et dans les nombres donnés ci-dessous, on peut, quoiqu'elle varie beaucoup, la fixer à un quart de la quantité totale; on s'en est rendu compte en comparant les quantités d'air contenu en dissolution dans deux portions d'un même moût, prises l'une sur le bac au moment où on le vide, l'autre dans la cuve après qu'elle est remplie.

Nous appellerons *degré de saturation* d'un moût à la température t, le rapport entre la quantité d'oxygène dissoute par ce moût et la quantité qu'il dissoudrait s'il était saturé à la même température.

La recherche des degrés de saturation revient à comparer le nombre de divisions d'hydrosulfite n correspondant au premier cas et le nombre n' correspondant au même moût saturé à la même température. Le rapport $\frac{n}{n'}$ donne le degré de saturation à la température t.

Dans les expériences qui ont été faites sur un moût marquant 14°,5 Balling comme densité moyenne, on a trouvé les résultats suivants :

En été, pour des moûts amenés par un appareil réfrigérant à la température de 5°, les degrés de saturation peuvent être fixés aux nombres :

Pour les moûts non filtrés.......	0,500
» filtrés..........	0,800

En hiver, pour quelques moûts entonnés à la température de 3° à 4°, sans le secours d'un appareil réfrigérant, il est arrivé de trouver la saturation complète pour les deux sortes de moûts; ce n'est cependant que dans le cas de températures extérieures très-basses (— 10° C.) qu'il a été permis de constater la saturation dans un moût non filtré. Quant aux nombres moyens de l'hiver, ils peuvent pour des moûts entonnés à la température de 5° être fixés aux nombres :

Pour le moût non filtré........	0,850
» filtré............	0,950

En automne et au printemps on trouve des nombres moyens intermédiaires entre ceux cités plus haut, savoir :

Pour le moût non filtré. .	0,500 à 0,850
» filtré......	0,800 à 0,950

Il est facile de déduire de ces rapports la quantité d'oxygène en volume contenue dans les moûts de brasserie, en se reportant à la fois aux Tables de Bunsen et à la formule (2) du paragraphe précédent. A la température de 5° C. qui est celle de l'entonnement des moûts ci-dessus, et en négligeant la très-faible correction relative à la différence du degré Balling, on trouve par cette formule, comme rapport des coefficients de solubilité de l'oxygène dans le moût saturé et dans l'eau :

$$\frac{c'}{c} = 0,82.$$

Or, à la température de 5°, la quantité d'oxygène dissoute dans 1^{lit} d'eau est, d'après Bunsen, de $0^{lit},036$ à la pression atmosphérique, soit à la pression de $\frac{1}{5}$ d'atmosphère, qui est celle de l'oxygène dans l'air atmosphérique :

$$\frac{0^{lit},036}{5} = 7^{cc},2,$$

et par suite, dans le moût saturé,

$$7^{cc},2 \times 0,82 = 5^{cc},904.$$

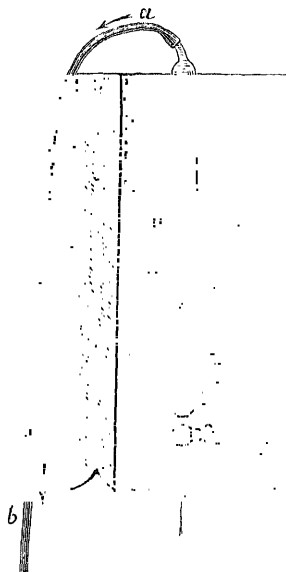
En multipliant ce dernier chiffre par les divers *degrés de saturation* trouvés, on aura les volumes d'oxygène dissous dans 1^{lit} des différents moûts, savoir :

Moûts d'été...	non filtré	$0,500 \times 5^{cc},904 = 2^{cc},950$
	filtré....	$0,800 \times 5,904 = 4,723$
Moûts d'hiver.	non filtré	$0,850 \times 5,904 = 5,018$
	filtré....	$0,950 \times 5,904 = 5,609$

Il est essentiel de noter qu'il s'agit ici des moûts pris dans la cuve de fermentation un peu avant leur mise en levain, c'est-à-dire lorsque la quantité d'oxygène en dissolution est aussi grande que le comportent les manipulations qu'on leur a fait subir.

Le prélèvement du moût dans la cuve de fermentation se fait de la manière suivante : on plonge dans la cuve de fermentation, dont on prend très-exactement la température, le tube à robinet H déjà figuré (page 345), que l'on fait communiquer par sa partie supérieure avec un tuyau de caoutchouc *ab* plus long que lui et à l'extrémité duquel on produit une aspiration ; le liquide de la cuve s'élève peu à peu dans le tube de verre et arrive bientôt à l'extrémité *b* du caoutchouc ; en abaissant celui-ci, l'ensemble de l'appareil constitue un siphon et laisse écouler pendant quelques minutes le moût en expérience ; quand toute trace d'air a été ainsi chassée, on ferme le robinet inférieur et l'on porte le liquide dans l'appareil de Schützenberger.

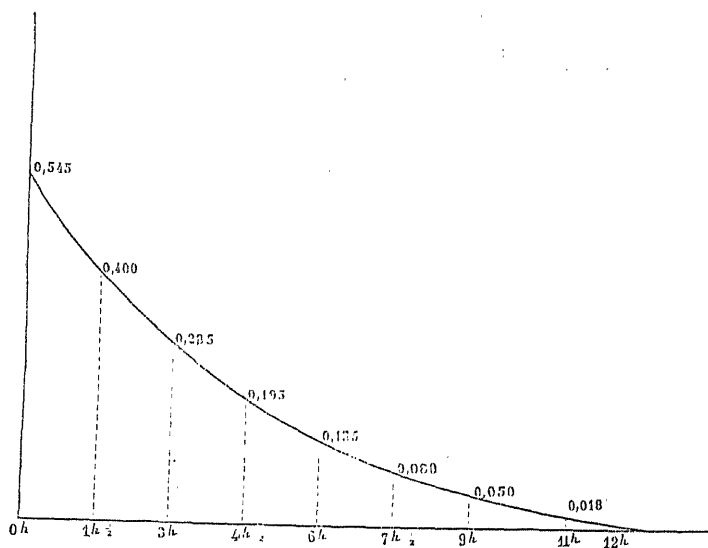
Quant au moût saturé, dont la teneur en oxygène sert à déterminer un des éléments de la fraction de saturation, on l'ob-

Fig. 82.

tient facilement en introduisant, dans un ballon de 2^{lit} à 3^{lit} de capacité, un volume de 100^{cc} à 150^{cc} de moût, et en l'agitant fortement pendant deux minutes environ, de façon à le saturer d'air; on le laisse ensuite déposer rapidement dans un verre à pied pour le séparer de la grande quantité de mousse formée, et au moyen d'une pipette graduée on en prend 50^{cc}.

Nous avons dit toute l'influence de l'oxygène sur l'activité de la levûre sur son développement et par suite sur la marche de la fermentation. En outre, nous savons, par les expériences mentionnées précédemment et que j'ai communiquées à l'Académie et à la Société chimique, en 1861, que le rapide développement de la levûre au contact de l'air est corrélatif d'une disparition de l'oxygène de cet air. Connaissant les conditions de l'aération

du moût depuis les bacs jusque dans la cuve de fermentation au moment où il va être mis en levain, il y aurait un grand intérêt à rechercher ce qui arrive à ce moment pour l'oxygène en dissolution dans le moût, comment la levûre se comporte vis-à-vis de cet oxygène, comment, en un mot, ce gaz intervient dans la fermentation.

Suivons donc heure par heure le degré de saturation après la mise en levain dans la brasserie Tourtel. Le 4 novembre 1875, du moût de bière à 14° Balling a été pompé sur les bacs à 7ʰ du soir et descendu à 4ʰ du matin à la température de 6° C. dans une cuve de 32ʰˡ. La mise en levain, à 100ᵍʳ environ de levûre pressée par hectolitre, a eu lieu à 5ʰ du matin. Voici la courbe des degrés de saturation de l'oxygène dressée par MM. Calmettes et Grenet :

Fig. 83.

Les abscisses représentent les temps exprimés en heures et les ordonnées donnent les degrés de saturation du moût en oxygène. On voit qu'au bout de douze heures après la mise en levain et à la

température de 6°C. tout l'oxygène a disparu absorbé par la levûre. Nous constaterons que le moût considéré seul, sans association avec la levûre, se serait combiné également à l'oxygène; mais à 6° pendant douze heures, cette combinaison eût été peu sensible en l'absence de la levûre. C'est donc bien sur la levûre que l'oxygène dissous se fixe dans les conditions dont il s'agit. Une expérience en a donné la preuve directe. On a employé pour une cuve pareille à la précédente une quantité double de levûre, et l'on s'est assuré qu'il a fallu moitié moins de temps pour la disparition complète de l'oxygène en dissolution (1). Il importe essentiellement de remarquer que dans notre cuve de 32^{hl}, au moment où l'on a reconnu la disparition complète de l'oxygène dissous, les cellules de la levûre avaient pris un aspect plus jeune et plus turgescent qu'au début, mais qu'elles ne s'étaient pas encore multipliées du tout, que même elles ne portaient pas encore de bourgeons visibles. L'oxygène est donc en quelque sorte emmagasiné dans les cellules, fixé sur leurs principes oxydables pour être mis en œuvre ultérieurement ou pour leur donner un *primum movens* de vie et de nutrition, qui s'étend à plusieurs générations successives de cellules.

§ IV. — De la combinaison de l'oxygène avec le mout de bière.

L'oxygène de l'air ne fait pas que se dissoudre dans le moût de bière, il s'y combine. Une expérience très-simple permet de s'en convaincre : qu'on prenne du moût bouillant, séparé du houblon à la chaudière de cuisson, qu'on l'enferme dans un vase de fer-blanc, et qu'on le refroidisse brusquement en le plongeant dans de l'eau glacée, puis que, après l'avoir ainsi refroidi jusqu'à 15° ou 20°, on le sature d'oxygène en l'agitant vivement dans

---

(1) On sait d'ailleurs, par des expériences directes de M. Schützenberger, faites sur de l'eau aérée à laquelle on mêle de la levûre, que celle-ci fait rapidement disparaître tout l'oxygène dissous. Par l'hydrosulfite, on n'en trouve plus trace. (*Voir* Schützenberger, *Revue scientifique*, t. III, 2e série, avril 1874.)

une grande fiole, qu'on l'enferme ensuite dans un vase complétement rempli et clos pendant douze heures, enfin qu'après cet intervalle de temps on l'étudie à l'aide de l'hydrosulfite de soude, comme il a été dit au § II, on n'y trouvera plus trace d'oxygène libre. Toute la quantité de ce gaz qui était en dissolution à l'origine sera entrée en combinaison, c'est-à-dire que la liqueur bleue de carmin d'indigo, après avoir été ramenée au jaune par l'hydrosulfite de soude, ne se colorera pas du tout sous l'influence de ce moût.

Les expériences suivantes ont été entreprises pour étudier cette propriété du moût, afin d'avoir une idée de sa valeur et de la quantité totale d'oxygène que le moût peut absorber dans quelques circonstances particulières. Les expériences ont été faites dans mon laboratoire sur du moût de la brasserie Tourtel, expédié par M. Calmettes, en bouteilles préparées sur place à Tantonville de la façon suivante : chaque bouteille était remplie de moût bouillant pris à la chaudière et bouchée avec un bouchon percé d'un trou qui laissait passer le col d'un entonnoir rempli lui-même de moût et préservé par une couche d'huile du contact de l'air. Le lendemain, on bouchait, à l'aide d'un foret à aiguille préalablement échaudé, avec un bouchon de liége plein et flambé. Les bouteilles arrivaient à Paris en très-bon état, le liquide touchant au bouchon ; on laissait reposer à une température sensiblement égale à celle où le bouchage des bouteilles et le voyage avaient eu lieu. Ce repos durait un jour ou deux. Il avait pour but de donner le temps au dépôt du moût de se faire au fond de chaque bouteille. On sait, en effet, que le moût bouillant dans la chaudière est chargé de matières protéiques et autres flottantes et insolubles. Le moût surnageant le dépôt était trouble, opalin : c'est dans cet état qu'il servait aux expériences. On peut admettre sans erreur sensible qu'il était absolument privé d'oxygène dissous, puisqu'il avait été enfermé bouillant et qu'il s'était refroidi à l'abri de l'air. Quant à la quantité d'oxygène combiné qu'il pouvait contenir, elle devait être très-faible sans être nulle, puisque le moût est exposé à l'air dans la chaudière

de cuisson, mais cet oxygène combiné ne pouvait avoir aucune influence sensible sur les résultats cherchés ; nous appellerons ce moût *moût de la chaudière*.

Première expérience. — Dans un ballon à col droit, on introduit à l'aide d'un siphon un certain volume déterminé de ce moût, en ayant soin que le siphon n'entraîne que le moût opalin, et pas de dépôt du fond de la bouteille ; puis, après avoir étiré le col à la lampe, on fait bouillir le moût. On ferme la pointe effilée du col pendant l'ébullition : après refroidissement, on laisse rentrer de l'air pur dans le ballon. A cet effet, on donne un trait de lime près de la pointe effilée et fermée du ballon que l'on joint par un tube de caoutchouc à un tube de verre, renfermant une colonne d'amiante que l'on a fait chauffer ; on brise alors la pointe du ballon dans le tube de caoutchouc ; l'air qui rentre dans le ballon se filtre sur l'amiante. On retire le tube de caoutchouc et l'on ferme de nouveau à la lampe la pointe brisée et effilée de son col. Afin d'aérer à saturation le moût, on agite vivement pendant quelques minutes le ballon, puis on le porte dans un bain-marie, où on le laisse environ un quart d'heure, après quoi on le porte dans une étuve à 25°. Le lendemain et jours suivants, on répète les mêmes opérations, et cela pendant cinq jours.

Le moût, d'abord à peine coloré, prend peu à peu une teinte brun rougeâtre et laisse déposer une matière amorphe sans cependant s'éclaircir. Toutefois, il devient clair par la filtration, ce qui n'arrivait pas au moût trouble, opalin, des bouteilles à leur arrivée.

Voici l'analyse de l'air du ballon faite aussitôt après une nouvelle et vive agitation qui avait pour but de saturer d'air le moût avant l'analyse de l'air surnageant :

29 novembre.	Température à laquelle le ballon a été rempli d'air..........	4°
	Pression atmosphérique	751^{mm}
	Volume total du ballon	333^{cc}
	Volume du moût............	120

		cc
8 décembre.	Volume du gaz analysé	27,6
	Après l'action de la potasse....	27,4
	Après l'acide pyrogallique.....	22,4
	Oxygène.........	5,0

Composition de l'air :

Oxygène	18,25
Azote.................	81,57

La formule établie, page 350, permet de conclure qu'à la température de 8° (qui a été la température de saturation du moût avant l'analyse ci-dessus) la quantité d'oxygène dissoute dans les 120^{cc} de moût était de 0^{cc},84.

Au moment de la fermeture du ballon, le volume total d'oxygène rapporté à zéro et à 76 était de 44^{cc},73.

Au moment de l'analyse finale, le volume d'oxygène était, dans les mêmes conditions, de 38^{cc},86.

Il a donc disparu 5^{cc},87 et, comme il y en a 0^{cc},84 dissous, il y a eu une absorption par combinaison de 5^{cc},03, soit par litre 41^{cc},7 d'oxygène combiné.

Deuxième expérience. — Dans une expérience semblable, mais dont le ballon fut laissé cinq jours à une température rigoureusement constante jour et nuit, de 55° et sans agitation avec l'air surnageant, on a trouvé :

Volume analysé................	28,5
Après action de la potasse	28,3
Après acide pyrogallique	23,0
Oxygène........	5,3

Composition de l'air :

Oxygène................	18,6
Azote..................	81,4

	cc
Oxygène primitif.............	29,40
» restant............	26,04
» disparu..............	3,36
» dissous.............	0,54
» combiné..........	2,82
Soit par litre, oxygène combiné.....	35^{cc},2

La teinte du moût dans cette expérience était devenue sensiblement pareille à celle du moût de la première expérience.

Troisième expérience. — Dans une autre expérience, on a laissé le ballon, toujours pendant le même temps, après son remplissage d'air et sa fermeture, à une température comprise entre 2° et 4°. Dans ce cas, on a trouvé :

Volume d'air analysé	27,8
Après action de la potasse........	27,8
Après acide pyrogallique	22,3
Oxygène.........	5,5

Composition de l'air :

Oxygène	19,7
Azote..................	80,3

Oxygène primitif	29,40 cc
» restant..............	27,58
» disparu..............	1,82
» dissous.......... ..	0,44
» combiné.............	1,38

Soit par litre, oxygène combiné.....	$17^{cc},2$

Dans cette dernière expérience le moût s'était à peine foncé en couleur. La teinte du moût comparée à celle du moût refroidi sur les bacs dans la brasserie était un peu plus foncée; mais la différence, quoique réelle, était à peine appréciable. Nous reviendrons tout à l'heure sur cette remarque qui est importante.

Quatrième expérience. — Afin d'avoir une idée de la rapidité avec laquelle se fait l'absorption de l'oxygène par le moût, on a institué les expériences suivantes :

Trois ballons A, B, C, ayant respectivement le volume

$$A = 234,$$
$$B = 214,$$
$$C = 203,$$

dans lesquels on a introduit le volume de moût suivant (moût de la chaudière, sans air)

Dans A.................	96cc
» B.................	84
» C.................	84

ont été ensuite effilés et fermés à la lampe, à la température de 5°, puis portés à 100° dans un bain-marie pendant un quart d'heure. Le ballon A a été agité à maintes reprises pendant son refroidissement. Le ballon B a été agité de même et le ballon C n'a pas été agité.

Le ballon A a été analysé aussitôt après refroidissement complet, c'est-à-dire après trois heures. Les ballons B et C ont été analysés au bout de vingt-quatre heures. On avait eu soin de ne procéder à l'analyse qu'après avoir agité les trois ballons pendant quelques minutes, afin que dans chacun d'eux le moût fût saturé à une température déterminée, de façon à rendre rigoureuse la connaissance de la quantité d'oxygène dissoute.

On a trouvé ainsi que les moûts des trois ballons renfermaient

Ballon A,	oxygène combiné	par litre.	20cc
» B,	»	»	21,4
» C,	»	»	16,8

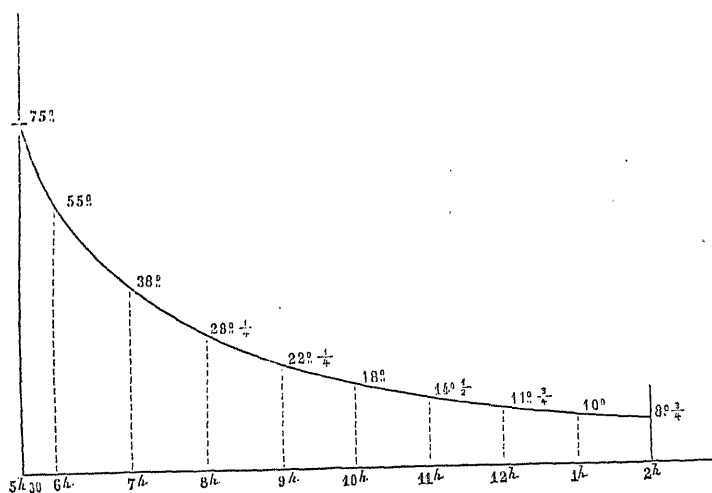
De ces expériences on déduit plusieurs conséquences : l'agitation du moût avec l'air a une influence notable sur l'absorption; une absorption très-sensible est immédiate par l'agitation à chaud; l'absorption est très-lente avec le moût froid, au repos.

Les résultats des expériences précédentes disent assez que le moût de bière, arrivant très-chaud sur les bacs refroidisseurs et y séjournant pendant plusieurs heures, doit absorber par combinaison une quantité d'oxygène appréciable; mais ces mêmes expériences n'apprennent rien sur le volume exact d'oxygène, qui s'y trouve réellement absorbé. Nous pouvons seulement déduire de la remarque qui termine la troisième expérience ci-dessus (page 361) que la quantité totale d'oxygène

absorbée par le moût de la brasserie Tourtel pendant son séjour sur les bacs doit être inférieure à 17^{cc} par litre, puisque la coloration apportée par l'oxygène combiné dans la proportion de 17^{cc} par litre était plus forte que celle du moût pris sur les bacs dans la brasserie même.

Si nous connaissions la courbe du refroidissement sur les bacs à Tantonville, nous pourrions nous rapprocher, dans des expériences de laboratoire, des conditions d'oxydation du moût sur ces bacs, en exposant du moût au contact de l'air dans des ballons fermés, à des températures qui varieraient suivant les indications de la courbe susdite. Dans ce but, j'ai fait étudier par M. Calmettes, à Tantonville, la marche du refroidissement sur les bacs. La *fig.* 84 fait connaître les nombres d'une expérience.

Fig. 84.

Courbe de refroidissement du moût sur les bacs (18 décembre 1875).

Les abscisses représentent les temps exprimés en heures. Les ordonnées représentent les degrés de température. La température extérieure était de 0°, l'atmosphère calme. Le moût a été pompé sur bacs à 5^{h}20^{m} du soir; sa température

d'arrivée était de 85°. L'écoulement a duré de $5^h 20^m$ à $5^h 30^m$. La première détermination a été faite à $5^h 30^m$ et répétée de dix en dix minutes jusqu'à $7^h 30^m$. De $7^h 30^m$ à $8^h 30^m$, elle a été faite de vingt en vingt minutes, puis de demi-heure en demi-heure jusqu'à 2^h du matin, heure de l'écoulement dans les cuves de fermentation. La hauteur moyenne du moût était de $8^c,5$.

Cela posé, on a fait l'expérience suivante : du moût de chaudière, par conséquent privé d'oxygène, comme lorsqu'il arrive sur les bacs, a été introduit en volume connu dans un flacon cylindrique jaugé, qu'on a fermé ensuite avec un bouchon de caoutchouc et qu'on a porté tout de suite, sans l'agiter, dans un bain-marie à 85°. Un flacon témoin, pareil au précédent dont le bouchon portait un thermomètre plongeant dans le moût, permettait de suivre la température; on a fait descendre celle-ci progressivement, en suivant exactement les données de la courbe précédente, jusqu'à ce que l'eau eût atteint, en huit heures et demie, la température de 10°. Sans doute, on ne peut pas admettre qu'on réalise ainsi toutes les conditions des bacs, mais on s'en rapproche beaucoup, et c'est plus une approximation qu'une détermination rigoureuse que nous cherchons. On a alors recueilli sur la cuve à mercure et analysé avec grand soin l'air resté dans le flacon, en même temps que, par l'appareil Schützenberger, on a dosé l'oxygène dissous dans le moût de ce flacon. On a déduit facilement des résultats obtenus la quantité d'oxygène disparu, c'est-à-dire cédé par l'atmosphère du flacon au moût et combiné avec les principes oxydables de ce dernier.

Le volume du flacon étant de 815^{cc}, le volume du moût 391^{cc}, la profondeur du liquide 8^c, on a trouvé une absorption par combinaison de $9^{cc},49$ d'oxygène par litre de moût. Un autre flacon traité de même a fourni des résultats semblables.

L'influence de l'oxygène dissous étant très-grande dans la fermentation, il importerait de connaître également celle que peut avoir l'oxygène combiné. Les considérations et les expériences suivantes vont nous éclairer sur ce point.

J'ai fait remarquer antérieurement que les moûts sucrés naturels s'oxydent et se colorent au contact de l'air, et que cette coloration disparaît lorsque ces moûts sont mis en fermentation. C'est déjà une présomption que l'oxygène combiné disparaît alors, enlevé par la levûre. Le moût de bière donne lieu au même phénomène. Devenu très-foncé par son séjour au contact de l'air pur, il se décolore très-sensiblement pendant la fermentation, et, s'il ne revient pas entièrement à la teinte du moût primitif au sortir de la chaudière, il est probable que cela tient à ce que la quantité d'oxygène combiné au moût dépasse souvent celle qui est prise par la levûre. Enfin nous savons que la levûre absorbe l'oxygène, puisque, dans l'acte de la fermentation d'un moût sucré plus ou moins saturé d'oxygène en dissolution, le premier effet de la levûre est de fixer cet oxygène sur sa propre substance. Nous devons nous attendre dès lors à voir, non-seulement l'oxygène dissous dans le moût de bière, mais encore l'oxygène combiné être enlevé par la levûre et contribuer à l'activité de la fermentation. C'est, en effet, ce que des expériences directes démontrent, car la fermentation d'un moût qui s'est oxydé au contact de l'air, ou qui a fait disparaître par combinaison directe tout l'oxygène qui y était dissous, est beaucoup plus facile, rapide et complète, que celle du même moût, qui ne contient ni oxygène libre, ni oxygène combiné. Voici comment les essais étaient conduits : dans un grand ballon à deux tubulures, pareil à ceux de la *fig.* 73, on portait rapidement à l'ébullition du *moût de la chaudière;* on laissait rentrer de l'air pur et, après refroidissement, on saturait d'air le moût par une agitation brusque pendant un quart d'heure. Le moût était poussé ensuite par une pression d'air exercée à l'extrémité de la tubulure en S dans des ballons plus petits, semblables au précédent, qu'on remplissait entièrement, et dont on faisait plonger dans le mercure la tubulure sinueuse. Après deux ou trois jours d'attente, temps plus que suffisant pour que l'oxygène dissous fût entré en combinaison, ce dont on s'assurait, d'ailleurs, par un ballon semblable servant de témoin, on mettait en levain le moût des ballons par comparaison avec

du *moût de la chaudière*, ne contenant ni air dissous, ni air combiné.

Dans d'autres expériences, on a opéré sur du moût pur, saturé d'oxygène combiné, par un séjour d'un an dans un flacon ouvert au contact de l'air pur. Ce moût a été privé d'air dissous par une longue ébullition sur le mercure. On l'a ensuite ensemencé à l'abri de l'air avec une levûre vieille; celle-ci ne s'est pas développée du tout, ce qui prouve que l'oxygène combiné ne peut pas, comme l'oxygène libre ou simplement dissous, servir à rajeunir la levûre; mais, après qu'on eut provoqué le rajeunissement de celle-ci par un peu d'air, la fermentation se déclara avec une facilité bien plus grande que pour du moût de chaudière, placé dans les mêmes conditions et privé d'oxygène combiné.

§ V. — De l'influence de l'oxygène combiné sur la clarification du mout de la bière.

L'oxygène combiné a une autre influence qu'il importe essentiellement de mettre en lumière, car elle concerne la clarification de la bière. Or une des propriétés les plus recherchées de cette boisson est sa limpidité et son brillant. Nous savons par les résultats de l'expérience quatrième, page 361, que le moût agité chaud avec de l'air et étudié aussitôt après son refroidissement, c'est-à-dire après un intervalle de trois heures seulement, a déjà absorbé par combinaison un volume notable d'oxygène, qui, dans les expériences que je rappelle, ne s'élevait pas à moins de 20^{cc} d'oxygène par litre de moût. L'agitation avec l'air faite à froid sature le moût d'oxygène en dissolution; mais la quantité d'oxygène qui se combine dans ces conditions en trois heures de temps est insignifiante, quoique la saturation par dissolution soit atteinte déjà après une minute d'agitation. Or, si deux portions d'un même moût agitées l'une à chaud, l'autre à froid avec de l'air, sont filtrées après vingt-quatre heures de repos ou même immédiatement, on est frappé de la grande différence qu'elles présentent sous le rapport de

leur limpidité. Le moût agité à chaud sera plus coloré, brillant, l'autre trouble, et ce n'est qu'après cinq ou six jours que celui-ci, abandonné au contact de l'air et filtré de nouveau, deviendra clair. Cela nous explique un fait facile à vérifier dans la pratique : le moût de la chaudière refroidi brusquement ou lentement hors du contact de l'air, ou agité froid au contact de l'air, passe opalin à la fitration, tandis qu'après son refroidissement sur les bacs, où il s'est combiné à une certaine quantité d'oxygène, il passe très-limpide en général. Le brasseur intelligent redoute qu'il n'en soit pas ainsi, parce qu'on ne saurait nier que la facile clarification du moût n'ait une influence favorable sur la facile clarification de la bière.

Ce serait néanmoins une grave erreur de croire que la clarification du moût suffise pour entraîner celle de la bière et à ce sujet je dois entrer tout de suite dans une digression qui le prouvera : Le 3 février 1874, on fait un brassin sur 2^{hl}. Le moût bouillant est versé avec tout son houblon dans une cuve semblable à celle représentée page 339, mais munie en outre d'un double fond percé de trous établi à 1^c du fond de la cuve. Ce double fond est destiné à recevoir les feuilles de houblon.

La température du moût dans la cuve, après son remplissage, le 3 février à 4^h du soir, est de 90°, celle de la salle est de 10°. On laisse refroidir lentement sans verser de l'eau sur la cuve. Le moût marque 14° Balling.

Voici les températures observées :

		Température du moût.	Température de la salle.
4 février.	11^h matin...	38°	9°
	7 soir.....	30	9
	11,30 soir...	26,3	9
5 février.	9 matin..	21	8
	12 » ..	19,75	8
	4 soir...	18	8,5
6 février.	11 matin..	14	8
7 février.	2 soir...	11	7

Le moût soutiré au petit robinet situé à moitié de la hauteur de la cuve est déjà très-limpide, quoiqu'il soit pris dans la masse du liquide au-dessus du dépôt de houblon.

Le 8 février, la température du moût est 9°,5; celle de la salle 5°. On constate de nouveau que le moût est très-limpide. Prélevé au petit robinet et essayé par le procédé Schützenberger, il ne renferme pas d'oxygène libre en dissolution, quoique sa surface soit au contact de l'air. Sa pureté est toujours absolue parce que les dispositions de notre cuve, ainsi que cela a été déjà expliqué, ne laissent rentrer que de l'air privé de ses germes d'altération.

Le 12 février seulement, après avoir constaté de nouveau que le moût est pur et d'une limpidité brillante, qu'on ne peut mieux comparer qu'à celle de l'eau-de-vie de Cognac, sans le moindre soupçon d'opalescence quelconque, on le met en levain dans une cuve pareille à celle où il s'est refroidi, mais sans double fond et où il a été transvasé en l'aérant au fur et à mesure qu'il s'écoulait. A cet effet, on le faisait tomber sur une sorte de petite capsule de fer-blanc renversée, de 4^c à 5^c de diamètre. Par cette disposition le moût s'aère d'un peu plus du tiers de sa saturation, c'est-à-dire qu'en s'étalant sur cette capsule et en tombant ensuite en nappe, il prend un volume d'oxygène qui est plus du tiers de la quantité totale d'oxygène qu'il peut absorber à la même température que celle à laquelle il se trouve. Celle-ci était de 12° au moment du soutirage. La mise en levain a été pratiquée avec un flacon de 6^{lit} de capacité, contenant environ 4^{lit} de bière en fermentation basse depuis le 3 février. La bière de la cuve a été soutirée le 24 février; le *Balling* marquait 5° $\frac{1}{4}$. On a recueilli 2^{kg},345 de levûre renfermant 56 pour 100, soit 1^{kg},313 de levûre pressée qui contenait 36,7 pour 100 de levûre séchée à 100°, soit 482^{gr} pour le brassin, ce qui donne 241^{gr} de levûre formée par hectolitre.

La bière était trouble au soutirage.

Le petit verre de prise ne s'est pas éclairci en vingt-quatre ni en quarante-huit heures. Ceux des jours précédents étaient

dans le même cas. La levûre était bien déposée, sans *folle* levûre sur les parois. L'absence de limpidité était caractérisée par une fausse couleur plutôt que par un trouble réel. Notons en passant que, si l'expérience précédente, toutes choses égales, eût porté sur du moût à la fois oxydé par combinaison et aéré par dissolution, la bière eût été limpide et mieux cassée.

Il résulte de cette expérience qu'un moût peut avoir *une limpidité parfaite* au moment de la mise en levain sans pouvoir donner une bière limpide au soutirage et qui est, en outre, d'un éclaircissement ultérieur très-difficile.

Je dois ajouter qu'ayant recommencé la même expérience, mais en faisant refroidir le moût aussi rapidement que le permettaient les conditions de notre installation, et en employant de l'eau glacée, la bière s'est montrée presque claire au soutirage et s'est éclaircie assez rapidement en tonneaux et en bouteilles. La durée totale du refroidissement avait été de deux heures seulement.

Comment agit l'oxygène combiné au moût dans la clarification de ce dernier ou dans la clarification de la bière? Quoique l'explication de ce fait soit difficile à donner avec précision, il faut considérer que dans les meilleures clarifications de bière, quand on examine celle-ci au microscope pendant la fermentation, on voit, outre les paquets de cellules de levûre, des particules flottantes, amorphes, plus denses et plus volumineuses que celles qui troublent les moûts et les bières de mauvaise clarification, ce qui doit porter à conclure que l'oxygène combiné au moût a pour effet de modifier la nature du dépôt amorphe qui prend naissance pendant la fermentation du moût de bière. Le houblon cède au moût, à l'ébullition, des matières diverses, résineuses, odorantes, tanniques, qui, pour la majeure partie, sont retenues en dissolution par la présence du sucre et de la dextrine. Au moment où, sous l'influence de la levûre, elle-même plus ou moins oxydée, le sucre se transforme en alcool et en acide carbonique, une partie des matières amères et résineuses du houblon deviennent insolubles et restent en suspension dans le liquide. Il est très-probable que c'est à ce mo-

ment que l'oxygène combiné intervient et modifie la structure physique de ces particules insolubles et les agrége, de façon à les rendre d'un plus facile dépôt (1).

L'oxydation provoque également un précipité dans le moût, et ce précipité contribue aussi à rassembler et à faire déposer les très-fines particules flottantes du moût par une action mécanique analogue à celle qu'on remarque dans les opérations du collage. Sur les bacs un effet de cette nature se produit. Le moût dans la chaudière contient des matières insolubles qui passent sur les bacs; et comme le moût bouillant très-limpide se trouble par le refroidissement, il contient, froid, deux sortes de matières insolubles : 1° des matières insolubles à froid et insolubles à chaud dont une partie, comme je viens de le dire, se forme même sous l'influence de la chaleur et de l'air : toutes ces matières se précipitent rapidement au fond des vases; 2° des matières extrêmement ténues, insolubles à froid, solubles à chaud, qui apparaissent par le refroidissement du moût et donnent un aspect laiteux au liquide. Si l'air n'intervient pas, elles restent pour ainsi dire indéfiniment en suspension. Le moût pris bouillant dans la chaudière et refroidi forme donc au fond des bouteilles un dépôt considérable. Or, si l'on distribue ce moût dans des bouteilles non remplies, que dans les unes on ne mette que le moût laiteux surnageant le dépôt et dans les autres le moût trouble avec partie du dépôt, qu'on porte à 100°

(1) J'ai fait remarquer, page 6 du Chapitre Ier, que, parmi les granulations amorphes des dépôts des moûts et des bières, se trouvent souvent de petites boules de matière résineuse et colorante d'une sphéricité parfaite, très-denses, qui peuvent bien troubler ces liquides quand on les agite, mais dont le dépôt se fait facilement et rapidement, sans qu'il en reste la moindre quantité en suspension. C'est sous cette forme que se font les dépôts du moût en fermentation, lorsque le moût a été fortement oxydé. Un jour j'ai voulu mettre en fermentation dans mon laboratoire une cuve de 12hl. N'ayant à ma disposition qu'une chaudière de 2 ½hl, j'ai dû faire venir le moût d'une brasserie voisine dans deux tonneaux de 6hl chacun et réchauffer ce moût, par parties, dans la chaudière de 2 ½hl. Ces manipulations eurent pour effet d'oxyder le moût plus qu'il ne l'était en sortant de la brasserie. Or, dans ce cas, la cassure de la bière fut remarquable, et les cellules de levûre étaient accompagnées du dépôt en boules figuré n° 6, *Pl. I.* J'ai répété cette expérience sur une plus petite échelle et elle a donné le même résultat.

et qu'on agite avec l'air, avant le refroidissement, à plusieurs reprises, on constatera facilement que les moûts des bouteilles avec dépôt s'éclairciront plus vite et mieux que ceux des bouteilles sans dépôt. Les dépôts insolubles dans la chaudière de cuisson ont donc une influence sur la clarification. Pourtant il faut ajouter que cette influence n'est pas à comparer avec celle de l'oxydation directe.

L'écoulement et le séjour du moût sur les bacs réalisent dans une certaine mesure les diverses circonstances qui interviennent dans la clarification du moût, puisque celui-ci s'écoule très-chaud et brusquement au contact de l'air, chargé de matières insolubles.

§ VI. — Application des principes du nouveau procédé de fabrication de la bière avec emploi de quantités limitées d'air pur.

Nous avons maintenant une idée des quantités d'oxygène libre ou combiné qui interviennent dans les procédés actuels de la fabrication de la bière. Nous savons, en outre, que trop d'air peut nuire, notamment à l'arome de la bière et à cette qualité très-prisée par les consommateurs, qu'on désigne sous le nom de *bouche de la bière.* Il importerait donc de savoir si, dans les procédés actuels, la proportion d'oxygène actif n'est pas exagérée.

Le meilleur moyen pratique de s'en rendre compte consisterait à comparer les résultats de fabrications diverses dans lesquelles l'accès de l'air, après avoir été nul, comme dans le cas du refroidissement en présence d'une atmosphère de gaz acide carbonique, serait progressivement accru. Le dispositif suivant permet de réaliser ces conditions.

Le moût de bière est amené à la température de 75° à 80° dans la cuve C à double fond. De là, par le tube *ab*, il descend dans un réfrigérant, le réfrigérant *Baudelot* par exemple, mais fonctionnant en sens inverse des *Baudelot* ordinaires, c'est-à-dire que le moût circule à l'intérieur des tubes et l'eau à l'exté-

rieur (1). Le moût refroidi, dont un thermomètre *c* (*fig.* 85) donne la température, redescend par le tube *c*DD et vient remplir la cuve de fermentation en fer-blanc ou mieux en cuivre étamé A, dont le couvercle est muni d'un trou d'homme et de regards; *gmn* est un des tubes de circulation d'air pendant la fermentation. Son tube conjugué n'est pas figuré. Il serait derrière la cuve.

En *d* se trouve une trompe à air pur. Elle est représentée plus en grand en T. Le moût qui s'écoule par le gros tube entraîne de l'air appelé du *dehors*, lequel air se brûle sur son parcours parce qu'un bec de gaz échauffe le tube de cuivre par où cet air arrive. Cette disposition donne un tiers et plus de la quantité totale d'oxygène que le moût prendrait par dissolution à la température à laquelle on opère, s'il était saturé à cette température.

F représente le détail de l'entonnoir renversé, garni de coton retenu entre deux treillis de fil de fer, qui terminent le tube *mn* pour la purification de l'air pénétrant dans la cuve de fermentation pendant que celle-ci est en marche.

v est un robinet d'arrivée pour la vapeur au moyen de laquelle la cuve et le réfrigérant sont purgés de tous germes étrangers avant chaque fermentation et avant l'écoulement du moût dans le réfrigérant.

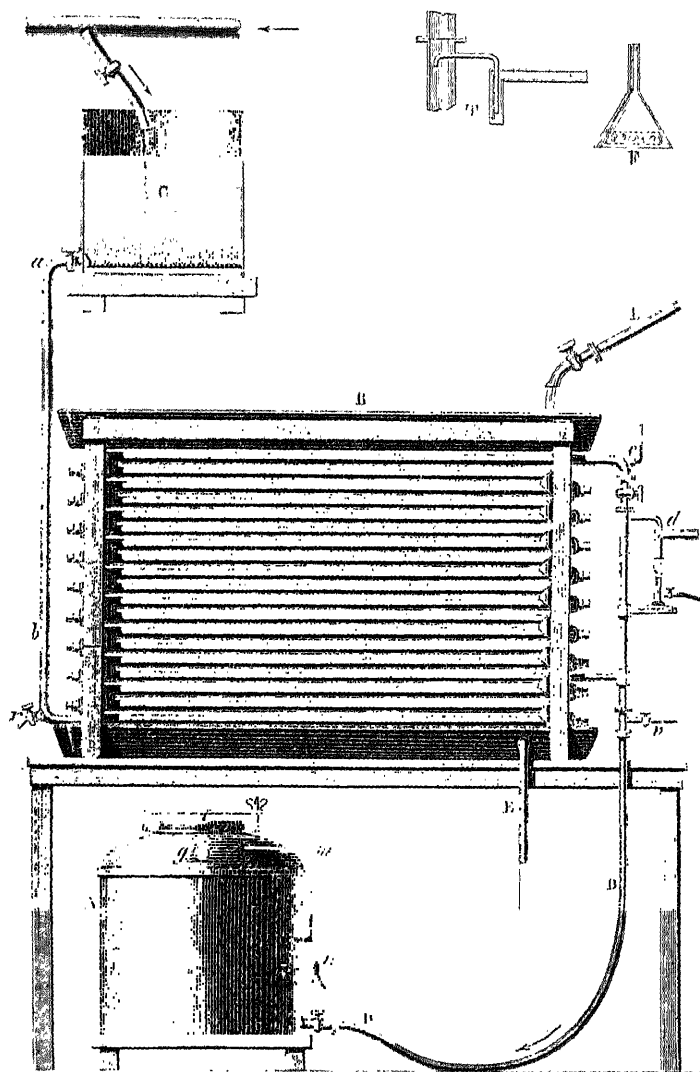
Lorsqu'une cuve de fermentation A est en marche, on peut mettre en levain une deuxième cuve de la manière suivante : à l'aide d'un petit robinet situé sur la cuve vers le tiers de sa hauteur, on fait passer quelques litres de bière en fermentation

---

(1) On comprend que cette disposition puisse être modifiée de bien des manières. Tous les serpentins ordinaires et, en général, tous les nouveaux réfrigérants imaginés dans ces dernières années, pourraient être adoptés. Il importe seulement de garder le principe de la pureté du moût pendant son refroidissement.

Le réfrigérant Baudelot est très-répandu en France; c'est pourquoi je l'ai préféré dans les expériences de Tantonville. On pourrait l'enfermer dans une caisse de tôle ou de cuivre étamé et faire couler le moût extérieurement sur les tubes, l'eau froide passant dans leur intérieur. De l'air pur arriverait dans la caisse. Le moût se refroidirait plus vite qu'avec la disposition décrite dans le texte et toujours dans des conditions de pureté. L'aération serait, en outre, aussi grande qu'on pourrait le désirer.

dans un bidon en cuivre étamé qu'on vient de purger par un

Fig. 85.

courant de vapeur et qui est plein d'air pur. Ce bidon est vidé

aussitôt dans la nouvelle cuve, opération facile, puisqu'il suffit de joindre le robinet du bidon au petit robinet de cette cuve. Alors on achève de remplir la cuve de moût qui vient se mêler au levain. Ces diverses manipulations, comme on le voit, se font dans des conditions de pureté complète sans le moindre contact, soit avec l'air extérieur, soit avec des ustensiles souillés de germes d'altération (1).

Il est rare qu'une industrie adopte d'emblée des pratiques nouvelles qui l'obligent à modifier son outillage, et le procédé dont nous parlons comporte cette exigence en ce qui concerne les cuves de fermentation, et le mode de refroidissement du moût. Mais le nouveau procédé pourrait rendre de grands services en le faisant servir seulement à la fabrication du levain pur et du moût pur ou même du levain pur seulement. En d'autres termes, on pourrait conserver les pratiques ordinaires pour les fermentations basses, le même mode de refroidissement ou le mode nouveau, les mêmes cuves de fermentation, la fermentation aux basses températures ; mais le levain serait préparé à l'état de pureté dans les cuves fermées décrites précédemment, recueilli dans ces cuves, aéré et employé suivant l'usage consacré ; mieux encore on mettrait en levain avec la bière en fermentation pure. Au-dessus de l'entonnerie serait établi le cellier des cuves du nouveau procédé, dont la bière

---

(1) Ce dispositif limite la proportion d'oxygène qu'on peut introduire dans le moût, par oxydation directe. Il serait facile de l'accroître à volonté, en faisant passer le moût sortant de la chaudière et du filtre à houblon dans un cylindre tournant sur son axe horizontal et muni de lames fixes à l'intérieur, pour diviser le moût et le mettre mieux en contact avec l'air restant dans le cylindre. Au lieu d'un cylindre tournant, on pourrait se servir d'une cuve fixe dans laquelle on agiterait le moût à l'aide d'un arbre tournant à palettes ou hélices. Dans les deux cas, on ferait en sorte, et cela serait facile, que l'air arrivât pur au contact du moût. La cuve fixe pourrait communiquer avec l'air extérieur par un tube rempli de coton. L'air qui serait dans la cuve au moment de l'introduction du moût serait purgé par la température élevée du moût à son arrivée de la chaudière. On aurait le grand avantage de pouvoir oxyder le moût dans des proportions déterminées. Il passerait de là dans le réfrigérant. On pourrait encore réchauffer à 75° le moût oxydé des bacs pour le refroidir comme nous l'avons dit et en l'aérant par la trompe.

pure serait dirigée pour la mise en levain dans les grandes cuves de l'entonnerie. Sans doute la bière ainsi préparée ne serait pas pure, mais, par les résultats qui ont été obtenus en opérant de cette manière, on peut assurer qu'elle serait de bien meilleure garde que la bière faite avec les levains ordinaires, en supposant même ces derniers aussi soignés et aussi purs qu'on peut les avoir dans les brasseries les mieux tenues.

Au mois de septembre 1874, on a fait à Tantonville une expérience en cuve fermée d'une capacité de 6^{hl}. Le dépôt de levûre a servi à mettre en levain une cuve ouverte, dont le moût avait été, en outre, refroidi dans des conditions de pureté. Il avait été refroidi à l'aide du Baudelot de la *fig.* 85, comme le moût de la cuve fermée. Désignons, pour abréger, par la lettre K la cuve fermée ou sa bière, et par la lettre M la cuve ouverte ou sa bière, et par T la bière correspondante de la brasserie. La cuve K, mise en levain le 4 septembre, a été soutirée le 17, la bière marquant 5°,5 au Balling.

Les bières K et M ont été envoyées à Paris, en même temps que des fûts de la bière T, faite par les procédés ordinaires. Ces différentes bières, arrivées le 22 octobre, ont été étudiées dans cinq cafés différents.

La bière M a très-bien soutenu la comparaison avec la bière T. Les goûts de ces bières se ressemblaient à tel point, que des connaisseurs, même habiles, s'y trompaient. La limpidité était brillante pour toutes deux. Dans deux cafés même, la bière M a eu la préférence sur T. Elle fut jugée plus *moelleuse* et plus *corsée*, circonstance qui s'explique par la moindre aération de son moût.

La bière K, quoique très-franche et très-limpide, a été jugée inférieure à M, mais uniquement parce qu'à la date de la dégustation, le 3 novembre, elle n'avait pas encore de mousse. Ainsi que je l'ai déjà fait observer, c'est un caractère des bières faites en vase clos que la fermentation secondaire met plus de temps à s'y déclarer. La levûre en suspension dans la bière, au moment du soutirage, est pour toutes les bières le levain, si l'on peut ainsi dire, de la fermentation complémentaire. Dans les procédés ordinaires de la brasserie, cette levûre, à cause de la

plus grande aération du moût au début de la fermentation, est plus active, ou mieux plus prête pour le rajeunissement et la multiplication que celles des cuves fermées. Si l'on eût mis en perce les tonneaux de la bière K le 12 ou le 15 novembre au lieu du 3, la bière K aurait eu probablement du gaz carbonique autant que la bière M en avait à cette date du 3 novembre. Cette lenteur dans la reprise de la fermentation des bières faites en cuves fermées est un avantage pour la facilité du transport de la bière au loin, comme pour le développement moindre des dépôts de levûre dans les tonneaux et dans les bouteilles, ainsi que je l'ai fait observer précédemment.

Sous le rapport de la conservation, la bière M et celle de la brasserie T ont donné lieu aux observations suivantes (1).

Le 25 novembre, on commence à reconnaître dans la bière de la brasserie un goût de maladie et beaucoup de dépôt; elle n'est plus brillante et mousse énormément. Le dépôt est rempli de ferments de maladie, notamment de ceux figurés nos 1 et 7 de la *Pl. I*.

La bière M, au contraire, est brillante, avec un dépôt insignifiant, une mousse ordinaire, plutôt faible que forte, d'un beau brillant.

Le 3 décembre, la bière M est toujours bonne, très-claire, bien conservée et est considérée par des brasseurs de profession comme très-solide.

Le 22 décembre, cette bière M continue d'être très-claire et bonne.

Le 20 janvier, elle est toujours limpide; cependant, pour la première fois, on commence à apercevoir, dans le dépôt toujours faible des bouteilles, les filaments de la bière tournée. La maladie commence seulement; c'est donc deux mois de conservation au moins de plus que pour la bière correspondante de la brasserie. Cet exemple nous montre que, sous le rapport de la conservation et de la qualité, les procédés actuels gagneraient beaucoup à

(1) Un des fûts de la bière de la brasserie avait été mis en bouteille, fin d'octobre, en même temps qu'un fût de la bière M.

l'emploi de moût pur et de levain pur. C'est probablement sous cette forme que le nouveau procédé pénétrera dans la brasserie.

Quant à la conservation de la bière nouvelle lorsqu'elle est faite par le procédé appliqué dans toute sa rigueur, elle a donné lieu aux observations suivantes pendant l'été de 1875. La bière faite à Tantonville pendant les mois de juin et de juillet, à la température de 13° C., a été expédiée à Arbois (Jura), où je me trouvais alors, en fûts de 50^{lit} à 80^{lit}, par petite vitesse. La température de la cave à vin où ces fûts furent déposés était, le 1er juin, de 12°,5, et elle s'éleva progressivement jusqu'au 1er septembre à 18°. Dans cette cave, la bière de la brasserie faite par les procédés ordinaires s'altéra dans l'intervalle de quinze jours à trois semaines. La bière nouvelle résista pendant plusieurs mois. Il est vrai que quelques fûts perdirent leur mousse et que la bière se *vina;* mais ces effets sont indépendants des conditions propres au nouveau procédé.

Il résulte des comparaisons des bières K, M, T, dont nous avons parlé tout à l'heure, que, malgré l'utilité de l'aération et de l'oxydation des moûts pour hâter la fermentation et la clarification, il n'est pas indispensable au succès de la fabrication d'introduire dans les moûts de grandes quantités d'oxygène dissous ou combiné. Au delà d'une certaine limite, et cette limite est certainement dépassée dans les procédés ordinaires, l'oxygène nuit à la force et à l'arome de la bière.

Ces comparaisons nous ont donné la preuve que le nouveau procédé peut être appliqué à du moût aéré au tiers de sa saturation, mis en levain avec une bonne levûre basse, sortant de la fermentation d'un moût aéré de la même façon, et que les bières que l'on en obtient possèdent, avec une bien plus grande durée de conservation, une qualité égale et une force supérieure à celle des bières actuelles provenant des mêmes moûts.

La conclusion sur la force de la bière fournie par le nouveau procédé serait encore légitime, alors même qu'à la dégustation on aurait trouvé la bière nouvelle M de même force que la bière Tourtel des procédés ordinaires, parce que le moût dans le procédé nouveau est nécessairement, toutes choses égales, plus

faible que le même moût traité à la manière ordinaire. Il n'a pas subi l'évaporation sur les bacs qui concentrent le moût. En étendant celui-ci de toute l'eau que l'évaporation lui fait perdre, la bière résultante serait sensiblement affaiblie (1).

Ce qui est indispensable, c'est de se servir de bonnes variétés de levûres basses. Nous avons reconnu que l'emploi de certaines levûres rend la clarification des bières difficile, extrêmement lente, et la *cassure* de la bière à peu près impossible à la fin de la fermentation. Ces levûres donnent souvent aussi à la bière un goût *sui generis*, un goût de levûre qui ne disparaît pas, même après un long séjour en fûts. La répétition des cultures de ces levûres, en vases clos ou en vases ouverts, et quelle que soit la quantité d'air qu'on fasse intervenir avant la fermentation, ne paraît pas les modifier. Ce sont des variétés de levûres qu'il faut se hâter de sacrifier et de remplacer par d'autres.

Malgré les succès relatifs que l'application du procédé nouveau a déjà donnés dans divers essais industriels, la pratique ne l'a pas encore adopté. Il faut considérer qu'il ne s'agit pas ici d'un tour de main ou d'un perfectionnement mécanique pouvant passer d'emblée dans le travail courant des usines, mais de manipulations assez délicates, mises en œuvre à l'aide d'un outillage particulier. Dans ces conditions, il faut du temps et des efforts pour modifier les habitudes d'une grande industrie. Cela n'ôte rien à la confiance qu'on doit avoir dans l'avenir du procédé. J'espère que cette confiance sera partagée par tous ceux qui feront de cet Ouvrage une lecture attentive.

---

(1) L'évaporation sur les bacs est variable avec l'installation dans chaque brasserie. Elle n'est pas moins de plusieurs centièmes du volume total, et c'est un des avantages notables du nouveau procédé de donner, toutes choses égales, un volume de bière par 100^{hl}, de 5^{hl}, 6^{hl}, 7^{hl} supérieur au volume fourni par les procédés actuels, sans que la force de la bière en soit affectée. Il est d'ailleurs facile de connaître le quantum d'évaporation sur les bacs, en déterminant la quantité d'eau qu'il faut ajouter au moût sortant des bacs, pris sous un volume connu, pour ramener sa densité à être exactement celle du moût primitif, l'un et l'autre ramenés à la même température. Le saccharomètre anglais de Bate, qui accuse les densités du moût à $\frac{1}{1000}$ près, peut servir utilement pour cette recherche.

APPENDICE.

Pendant que cet Ouvrage était sous presse, il a paru deux brochures ayant pour objet la génération des organismes inférieurs.

La première est de M. Fremy. L'auteur paraît s'être proposé seulement de résumer sous une forme nouvelle la part qu'il a prise à la discussion qui eut lieu, sur l'origine des ferments, en 1871-1872, devant l'Académie des Sciences. M. Fremy, au cours de la discussion, avait annoncé un long Mémoire rempli de faits. J'ai été personnellement très-déçu à la lecture de son ouvrage. Outre que mes expériences et les conséquences que j'en ai déduites y sont présentées le plus souvent d'une manière que je ne puis accepter, M. Fremy se borne à déduire *a priori* de son hypothèse favorite une suite d'opinions appuyées sur des ébauches d'expériences dont aucune, à mon avis, n'est amenée à l'état de démonstration. C'est, à vrai dire, le roman de l'hémiorganisme, comme le livre de M. Pouchet a été autrefois le roman de l'hétérogénie. Et pourtant, quoi de plus clair que l'objet du débat? Je soutiens par des expériences, qui n'ont pas été contestées, que les ferments organisés vivants proviennent d'êtres également vivants et que les germes de ces ferments sont en suspension dans l'air ou à la surface extérieure des objets. M. Fremy prétend que ces ferments se forment par la force de l'hémiorganisme s'exerçant sur les matières albuminoïdes, au contact de l'air. Précisons par deux exemples :

Le vin est fait par une levûre, c'est-à-dire par de petites cellules végétales qui se multiplient par bourgeonnement. Suivant moi, les germes de ces cellules pullulent à l'automne à la surface des grains de raisin et du bois de leurs grappes. Les preuves que j'en donne ont la clarté de l'évidence. Suivant M. Fremy, les cellules de levûre naissent, par génération spontanée, c'est-à-dire, par la transformation des matières azotées contenues dans le suc du raisin dès qu'on expose ce suc au contact de l'air.

Du sang coule d'une veine, il se putréfie et se remplit promptement de bactéries ou de vibrions. Suivant moi, les germes de ces bactéries et de ces vibrions ont été apportés par les poussières en suspension dans l'air ou répandues à la surface des objets : poussières sur le corps de l'animal sacrifié, poussières sur les vases employés, etc. M. Fremy prétend, au contraire, que ces bactéries ou ces vibrions sont nés spontanément, parce que l'albumine, la fibrine du sang, ont en elles-mêmes une demi-organisation qui fait que, au contact de l'air, elles se transforment spontanément en ces petits êtres si agiles.

M. Fremy prouve-t-il son opinion? En aucune manière ; il se borne à affirmer que les choses sont ce qu'il dit qu'elles sont. Sans cesse, il parle de l'hémiorganisme et de ses effets, nulle part on ne trouve une preuve expérimentale à l'appui de son affirmation. Il y a cependant un moyen bien simple de prouver l'hémiorganisme, et sur lequel, M. Fremy et moi, nous sommes tout à fait d'accord. Ce moyen consiste à retirer des portions de jus de raisin, de sang, ou d'urine, etc., de l'intérieur même des organes qui renferment ces liquides, en évitant seulement le contact des poussières de l'air ou de celles des objets. Dans l'hypothèse de M. Fremy, ces liquides doivent nécessairement fermenter en présence de l'air pur. Suivant moi, c'est l'inverse qui doit avoir lieu. Voilà bien l'expérience décisive et cruciale entre les deux théories. M. Fremy ne conteste pas qu'il y a là, entre nos opinions, un *criterium* de la vérité. Or, j'ai publié, le premier, des expériences instituées d'après cette méthode si probante, en 1863 et en 1872. Le résultat a été celui-ci : dans les vases pleins d'air, mais d'air privé de ses poussières, le suc de raisin n'a pas fermenté, c'est-à-dire qu'il n'a pas donné les levûres du vin ; le sang ne s'est pas putréfié, c'est-à-dire qu'il n'a donné ni bactéries ni vibrions ; l'urine n'est pas devenue ammoniacale, c'est-à-dire qu'elle n'a fourni aucun organisme. Nulle part, en un mot, la naissance de la vie ne s'est manifestée.

En présence d'arguments aussi irrésistibles, M. Fremy, tout le long de sa brochure de 250 pages, va répétant que ces résultats qu'il déclare être accablants pour sa théorie s'expliquent cependant par cette circonstance que l'air de mes vases, pur au début, se modifie tout de suite chimiquement au contact du sang, de l'urine, du jus de raisin, que l'oxygène est changé en acide carbonique, et que, dès lors, l'hémiorganisme ne peut plus exercer sa puissance. Je suis fort surpris de cette affirmation, car M. Fremy ne peut ignorer que, dès 1863, j'ai donné des analyses de l'air de mes vases après que ceux-ci furent

restés stériles pendant plusieurs jours, pendant dix, vingt, trente et quarante jours, aux plus hautes températures de l'atmosphère, et que de l'oxygène était présent, souvent même dans des proportions presque identiques à celles où on le trouve dans l'air atmosphérique (1). Pourquoi M. Fremy n'a-t-il pas cité ces analyses? C'était le point capital, essentiel. D'ailleurs, si M. Fremy veut contrôler la vérité de son explication, il a un moyen simple de rétablir la pureté de l'air dans les vases au contact des liquides, c'est de faire passer un courant lent et continu d'air pur, jour et nuit, dans ces vases. Or cela je l'ai fait cent fois et j'ai reconnu que la stérilité des liquides putrescibles ou fermentescibles reste entière.

L'hémiorganisme est donc une hypothèse absolument insoutenable, et je ne doute pas que mon savant confrère ne vienne le déclarer devant l'Académie, car il a promis publiquement et itérativement d'agir ainsi dès que mes démonstrations lui paraîtraient convaincantes.

Pourquoi se roidir contre l'évidence des faits et des preuves? Cela ne profite à personne, mais la Science y perd devant l'opinion en considération et en dignité. Je serais heureux que la rigueur de mes études, sur le point dont il s'agit, pût trouver grâce devant M. Fremy et qu'il leur accordât la faveur qui ne leur manque pas à l'étranger. De l'autre côté du Rhin, y a-t-il aujourd'hui une seule personne qui soutienne les opinions de Liebig dont l'hémiorganisme de M. Fremy n'est qu'une variante? Si M. Fremy hésite encore devant mes démonstrations, les observations de M. Tyndall achèveront de le convertir à la vérité.

La seconde publication dont j'ai à parler est, en effet, du célèbre physicien anglais M. John Tyndall. Elle a été lue à la Société royale de Londres dans la séance du 13 janvier de cette année.

La lettre suivante fait connaître à quelle occasion ont été entreprises les recherches de l'illustre successeur de Faraday à l'Institution royale.

« Londres, le 16 février 1876.

« Cher monsieur Pasteur,

« Pendant ces dernières années, un certain nombre d'ouvrages portant les titres de : *Les commencements de la vie ; l'évolution* ou *l'origine de la vie* », etc., ont été publiés en Angleterre par un jeune

(1) Voir *Comptes rendus*, t. LXI, p. 734. Année 1863.

médecin, le Dr Bastian. Le même auteur a aussi publié un nombre considérable d'articles dans diverses revues et journaux. La manière très-circonstanciée avec laquelle il décrit ses expériences et le ton d'assurance avec lequel il avance ses conclusions ont produit une impression immense sur le public anglais comme sur le public américain. Ce qu'il y a de plus grave, au point de vue pratique, c'est l'influence que ces écrits ont exercée sur le monde médical. Il a attaqué vos travaux avec une grande vivacité et, bien qu'il n'ait produit qu'une légère impression sur ceux qui les connaissent à fond, il en a produit une très-grande, et j'ajouterai très-fâcheuse sur les autres.

» La confusion et l'incertitude ont fini par devenir telles, qu'il y a six mois j'ai pensé que ce serait rendre service à la Science, en même temps que justice à vous-même, que de soumettre la question à une nouvelle investigation. Mettant à exécution une idée que j'avais eue il y a six ans et dont les détails sont indiqués dans l'article du *British medical Journal* que j'ai eu le plaisir de vous envoyer, j'ai parcouru une grande partie du terrain sur lequel s'était établi le Dr Bastian, et réfuté, je crois, beaucoup des erreurs qui avaient égaré le public.

» Le changement qui s'est opéré dès lors dans le ton des journaux de médecine de l'Angleterre est tout à fait digne de remarque, et j'incline à penser que la confiance générale du public dans l'exactitude des expériences du Dr Bastian a été considérablement ébranlée.

» En reprenant ces recherches, j'ai eu l'occasion de rafraîchir ma mémoire sur vos travaux ; ils ont ravivé en moi toute l'admiration que j'en avais éprouvée à ma première lecture. Je suis dans l'intention de poursuivre ces recherches jusqu'à ce que j'aie dissipé tous les doutes qui ont pu s'élever au sujet de l'inattaquable exactitude de vos conclusions.

» Pour la première fois, dans l'histoire de la Science, nous avons le droit de nourrir l'espérance sûre et certaine que, relativement aux maladies épidémiques, la médecine sera bientôt délivrée de l'empirisme et placée sur des bases scientifiques réelles ; quand ce grand jour viendra, l'humanité, dans mon opinion, saura reconnaître que c'est à vous que sera due la plus large part de sa gratitude.

» Croyez-moi votre toujours très-dévoué.

» *Signé* : JOHN TYNDALL. »

Je n'ai pas besoin de dire la vive satisfaction que j'ai éprouvée à la

lecture de cette lettre, en apprenant que mes études venaient de recevoir l'appui des investigations d'un savant, renommé par sa rigueur expérimentale autant que par la brillante et pittoresque clarté de tous ses écrits. La récompense comme l'ambition du savant est de conquérir l'approbation de ses pairs ou celle des maîtres qu'il vénère.

M. Tyndall a observé ce fait remarquable que, dans une caisse dont les parois sont enduites de glycérine, et dont les dimensions variables pourraient être très-grandes, toutes les poussières en suspension dans l'air de la caisse tombent et viennent se fixer sur la glycérine, dans un intervalle de quelques jours. L'air de la caisse se trouve alors aussi pur que celui de nos ballons à deux tubulures. En outre, un faisceau de lumière peut indiquer le moment où cette pureté est obtenue. M. Tyndall a prouvé, en effet, que le faisceau est visible, pour un œil rendu sensible par un court séjour dans l'obscurité, tant qu'il existe des poussières flottantes propres à réfléchir ou à diffuser la lumière et qu'il devient, au contraire, tout à fait obscur et invisible quand l'air a laissé tomber entièrement ses particules solides. A ce terme, qui arrive promptement (en deux ou trois jours, pour une des caisses dont s'est servi M. Tyndall), on constate que des infusions organiques quelconques se conservent dans les caisses sans éprouver la moindre altération putride, sans donner naissance à des bactéries. Celles-ci pullulent, au contraire, dans de semblables infusions après un intervalle de deux à quatre jours, si les vases qui les contiennent sont exposés à l'air qui entoure les caisses. Dès que M. Tyndall le voudra, il pourra faire couler dans ses caisses du sang de la veine ou de l'artère d'un animal et montrer que ce sang ne se putréfie pas.

M. Tyndall termine par une application probable des résultats de son Mémoire à l'étiologie des maladies contagieuses. Je partage complétement ses vues à ce sujet et je le remercie d'avoir rappelé cette déclaration de mes *Études sur les maladies des vers à soie :* « Il est au pouvoir de l'homme de faire disparaître de la surface du globe les maladies parasitaires, si, comme c'est ma conviction, la doctrine de la génération spontanée est une chimère. »

FIN.

Paris. — Imprimerie de GAUTHIER-VILLARS, quai des Augustins, 55.

TABLE DES MATIÈRES.

Pages.

DÉDICACE.. V

PRÉFACE.. VII

CHAPITRE PREMIER.

DE L'ÉTROITE DÉPENDANCE QUI EXISTE ENTRE LA FACILITÉ D'ALTÉRATION DE LA BIÈRE OU DU MOUT QUI SERT A LA PRODUIRE ET LES PROCÉDÉS DE SA FABRICATION.

CHAPITRE II.

RECHERCHES DES CAUSES DES MALADIES DE LA BIÈRE ET DE CELLES DU MOUT QUI SERT A LA PRODUIRE.

§ I. — Toute altération maladive dans la qualité de la bière coïncide avec le développement d'organismes microscopiques étrangers à la nature de la levûre de bière proprement dite.............. 19

§ II. — L'absence d'altération du moût de bière et de la bière coïncide avec l'absence d'organismes étrangers.......................... 25

CHAPITRE III.

DE L'ORIGINE DES FERMENTS PROPREMENT DITS.

§ I. — Des conditions qui font varier la nature des productions organisées des infusions.. 33

§ II. — Expériences sur le sang et l'urine, pris à l'état normal et exposés au contact de l'air dépouillé des poussières qu'il tient en suspension.. 40

§ III. — Expériences sur le suc intérieur des grains de raisin........... 53

§ IV. — Moût de bière et moût de raisin exposés à l'air ordinaire....... 59

§ V. — Nouvelles études comparatives sur les germes en suspension dans l'air de divers lieux voisins, mais assujettis à des conditions différentes de production et de diffusion des poussières qu'on y rencontre.. 71

§ VI. — La levûre peut se dessécher et être réduite en poussière sans perdre sa faculté de reproduction.......................... 80

CHAPITRE IV.

CULTURE DE DIVERS ORGANISMES A L'ÉTAT DE PURETÉ. — LEUR AUTONOMIE.

Pages.

I. — Culture du *penicillium glaucum* et de l'*aspergillus glaucus* à l'état de pureté. — Preuves que ces moisissures ne se transforment pas en levûres alcooliques de la bière ou du vin. — Premières vues au sujet de la cause de la fermentation...................... 86
§ II. — Culture du *mycoderma vini* à l'état de pureté. — Confirmation de nos premiers aperçus touchant la cause de la fermentation. — Le *mycoderma vini* ne se transforme pas en levûre, quoiqu'il puisse provoquer un commencement de fermentation.......... 107
§ III. — Culture du *mycoderma aceti* à l'état de pureté............. 120
§ IV. — Culture du *mucor racemosus* à l'état de pureté. — Exemple de vie plus active et plus durable, hors de l'influence de l'air......... 126

CHAPITRE V.

LES LEVURES ALCOOLIQUES.

§ I. — De l'origine de la levûre.................................... 141
§ II. — De la levûre spontanée................................... 180
§ III. — Des levûres haute et basse.................................. 183
§ IV. — De l'existence et de la production d'autres sortes de levûres.... 192
§ V. — D'un nouveau genre de levûres alcooliques. — Levûres aérobies.. 201
§ VI. — Purification des levûres commerciales.......................... 214

CHAPITRE VI.

THÉORIE PHYSIOLOGIQUE DE LA FERMENTATION.

§ I. — Des rapports de l'oxygène avec la levûre...................... 229
§ II. — Fermentation dans les fruits sucrés, plongés dans le gaz acide carbonique. 258
§ III. — Réponse aux Drs Oscar Brefeld et Moritz Traube............... 270
§ IV. — Vie sans air. — Fermentation du tartrate de chaux............. 274
§ V. — Nouvel exemple de vie sans air. — Fermentation du lactate de chaux........................ 282
§ VI. — Réponse à Liebig... 305

CHAPITRE VII.

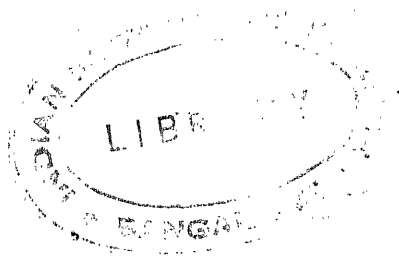
NOUVEAU PROCÉDÉ DE FABRICATION DE LA BIÈRE.

§ I. — Expériences préliminaires................................... 326
§ II. — Procédé de dosage de l'oxygène en dissolution dans le moût de bière.. 340

Pages.
§ III. — Sur la quantité d'oxygène, existant en dissolution, dans le moût de brasserie.. 351
§ IV. — De la combinaison de l'oxygène avec le moût de bière.......... 357
§ V. — De l'influence de l'oxygène combiné sur la clarification du moût de bière.. 366
§ VI. — Application des principes du nouveau procédé de fabrication de la bière avec emploi de quantités limitées d'air pur............ 371

Appendice.. 379

FIN DE LA TABLE DES MATIÈRES.

LIBRAIRIE DE GAUTHIER-VILLARS,
QUAI DES GRANDS-AUGUSTINS, 55, A PARIS.

ÉTUDES

SUR LA

MALADIE DES VERS A SOIE,

MOYEN PRATIQUE ASSURÉ
DE LA COMBATTRE ET D'EN PRÉVENIR LE RETOUR;

PAR M. L. PASTEUR,

MEMBRE DE L'INSTITUT IMPÉRIAL DE FRANCE ET DE LA SOCIÉTÉ ROYALE DE LONDRES.

DEUX BEAUX VOLUMES GRAND IN-8, AVEC FIGURES DANS LE TEXTE
ET 37 PLANCHES; 1870. — 20 FRANCS.

Cet Ouvrage se trouve chez tous les principaux libraires de France et de l'Étranger.

Si l'on désire le recevoir directement, *franco par la poste* (soigneusement emballé à cause des planches), il suffit d'envoyer à M. Gauthier-Villars, éditeur, en un mandat de poste ou une valeur sur Paris, savoir :

	fr. c.
Pour les *Départements* et l'*Algérie*	20 »
Pour les pays qui font partie de l'Union générale des postes, à l'exception des États-Unis de l'Amérique du Nord, c'est-à-dire pour l'*Europe*, l'*Égypte*, le *Maroc*, la *Russie d'Asie*, la *Turquie d'Asie*	21 »
Pour les *Etats-Unis de l'Amérique du Nord*	22,50
Pour le *Brésil*, la *Californie*, la *Chine*, la *Cochinchine*, le *Japon* (affranchissement jusqu'au port d'arrivée)	25 »
Pour l'*Amérique du Centre*, le *Chili*, le *Pérou* (affranchissement jusqu'au port d'arrivée)	26,50

Extrait des COMPTES RENDUS DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES
(séance du 11 avril 1870).

M. DUMAS, en présentant à l'Académie les *Études sur la maladie des Vers à soie* de M. Pasteur, s'est exprimé ainsi :

Cet Ouvrage se compose de deux volumes. Le premier contient l'exposé des recherches propres à l'auteur sur les maladies des vers à soie, et les

conclusions qu'il en tire ; le second est consacré aux Documents et aux Pièces justificatives.

Des Planches en couleur, nombreuses, d'une belle exécution, reproduisent avec fidélité les divers aspects du ver à soie sain aux âges caractéristiques de son existence, et ceux du ver à soie malade. L'état des tissus du ver sain ou malade, et leur apparence sous le microscope, ainsi que les signes microscopiques caractéristiques des maladies régnantes ont fourni à l'auteur le sujet d'un certain nombre de figures qui ornent son Ouvrage.

Un rapide historique fait connaître la nature et la marche des maladies principales dont le ver à soie a été atteint, soit en France, soit dans les autres pays. M. Pasteur en distingue trois principales : la *muscardine*, la *pébrine* et la *flacherie*.

La *muscardine* produite par le *Botrytis Bassiana*, qui semé sur le ver à soie envahit peu à peu tous ses tissus et le tue, a été peu à peu surmontée par l'emploi des lavages au sulfate de cuivre, appliqués aux magnaneries et à leur outillage. On peut la considérer comme ramenée aujourd'hui à un état purement accidentel, et sans portée industrielle.

Il n'en est pas de même de la *pébrine*, qui depuis vingt ans ravage les magnaneries de l'Europe et même de l'Orient. M. Pasteur démontre que cette désastreuse épidémie doit être attribuée à l'envahissement du ver à soie par les corpuscules.

Les corpuscules peuvent se montrer dans le ver à soie à toutes les époques, depuis la graine jusqu'au papillon. Leur nombre s'accroît cependant à mesure que la vie de l'insecte se prolonge, et il arrive à son maximum dans le papillon, lorsque l'animal n'a pas été victime de leur présence avant d'avoir atteint le dernier terme de son existence. Les corpuscules se rencontrent dans tous les tissus, dans tous les liquides, dans la matière même de la soie, et dans les déjections du ver. Ils se reproduisent et se multiplient au moyen de germes qui s'en séparent.

Les corpuscules qui se rencontrent en quantités innombrables dans la poussière des magnaneries, ceux qui existent dans les cocons, les papillons, les chrysalides, à la surface des œufs, dans les débris de vers ou leurs déjections, desséchés et conservés d'une année à l'autre, sont heureusement incapables d'engendrer la maladie. Ils sont privés de vie et n'ont pas la faculté de se reproduire. Il n'en est pas de même des corpuscules ou de leurs germes existant dans les œufs. Ceux-ci sont vivants comme les œufs et, après avoir traversé l'hiver à l'état latent, se développent avec eux, se multiplient dans les vers en éducation et en altèrent plus ou moins les conditions d'existence.

La maladie des corpuscules se transmet par l'hérédité, par l'inoculation et par les aliments.

M. Pasteur démontre par des expériences décisives et par une pratique étendue que, pour se mettre à l'abri de la maladie des corpuscules, il faut préparer une graine qui en soit exempte, ce dont on est toujours certain quand elle provient de papillons qui n'en contiennent pas. Il prouve, en outre, que la maladie des corpuscules a toujours existé et qu'elle se manifeste partout. Si l'on exagère la production des graines, sans surveillance, on multiplie les vers corpusculeux à tel point, que toute éducation en devient impossible.

Cependant, tout n'est pas perdu, car si l'on isole les vers pendant toute leur existence, la graine la plus malade fournira toujours quelques individus sains, capables de servir de point de départ à la régénération d'une race exempte de corpuscules. Ces circonstances expliquent comment tout pays producteur de graines peut commencer par fournir d'excellents produits et finir par des désastres, et surtout comment on ne peut compter pour l'alimentation

permanente des contrées séricicoles sur aucun pays producteur de graines, puisque les demandes qu'il cherche à satisfaire sont pour lui une cause certaine d'avilissement de la qualité. M. Pasteur étudie ensuite la *flacherie*, qui a pour cause l'apparition et le développement d'un ferment en chapelets de grains. Il constate que cette maladie peut se présenter sous forme héréditaire, qu'elle se transmet par l'inoculation et par les aliments. Il en voit l'origine en certaines fermentations de la feuille de mûrier qui, se manifestant dans l'estomac des vers, produisent la flacherie provoquée ou accidentelle. Une graine saine garantit toujours contre la maladie des corpuscules et même contre la flacherie héréditaire. Mais pour se mettre à l'abri de la flacherie accidentelle, il faut rendre les éducations précoces, préférer la feuille des mûriers non taillés, éviter l'emploi de feuilles de mûrier fermentées ou mouillées, modérer les repas, et donner aux vers un espace et une aération suffisants, surtout vers la fin de l'éducation, où les ravages de la flacherie sont plus à redouter. Il faut enfin des magnaneries bien tenues, car le ferment de la flacherie résiste pendant plusieurs années.

Pour reconnaître si les vers sont corpusculeux, l'emploi du microscope est indispensable; pour savoir s'ils sont atteints de flacherie, il suffit de jeter un coup d'œil sur les tables. On ne doit donc être jamais trompé sous ce dernier rapport, s'il s'agit de faire grainer. Toute éducation envahie par la flacherie peut être condamnée au simple aspect par le magnanier.

M. Pasteur prouve, par de nombreux exemples, que le procédé de sélection qu'il conseille et qui consiste à isoler les couples et à ne considérer comme bonnes que les graines provenant de parents reconnus sains, a fourni en moyenne environ 40 kilogrammes de cocons par once de 25 grammes et même, dans certaines éducations bien conduites, jusqu'à 64 kilogrammes par once de 25 grammes....

Sans doute, pour mener à bien une éducation de vers à soie, il faut encore des soins, de l'intelligence, de la prévoyance, une pratique exercée. M. Pasteur n'a pas cherché et n'a pas trouvé une recette qui dispense de toutes ces conditions. Il n'a pas appris non plus à faire des cocons beaux et abondants avec une graine infectée, mais il a appris à faire partout, et à coup sûr, une bonne graine et à la reproduire à volonté exempte de toute maladie héréditaire. *Que les éducateurs suivent ses préceptes, et non-seulement ils verront reparaître l'ancienne prospérité de leur industrie, mais encore, on a lieu de le penser, elle prendra un essort inconnu des anciens sériciculteurs.*

EXTRAIT DE LA TABLE DES MATIÈRES.

TOME PREMIER.

LA PÉBRINE ET LA FLACHERIE.

INTRODUCTION.

CHAPITRE I. — NOTIONS SUR LA MALADIE RÉGNANTE, CONSIDÉRÉE D'UNE MANIÈRE GÉNÉRALE. — Importance de la sériciculture en France. — Apparition de la maladie; ses ravages, sa propagation. — Apparences extérieures de la maladie.

CHAPITRE II. — CARACTÈRES PHYSIQUES DE LA MALADIE. — Des taches à la surface de la peau des vers malades. Historique. — Des corpuscules dans l'intérieur des organes des vers malades. Historique.

CHAPITRE III. — DES RECHERCHES ENTREPRISES AVANT L'ANNÉE 1865 POUR COMBATTRE LA MALADIE. — Distinction de la bonne et de la mauvaise graine. Procédés divers. — Remèdes proposés.

LA PÉBRINE.

CHAPITRE I. — ÉTUDE DE LA MALADIE DANS LES CHRYSALIDES ET LES PAPILLONS. — LA MALADIE DE LA TACHE, OU PÉBRINE, ET CELLE DES CORPUSCULES SONT UNE SEULE ET MÊME MALADIE EXTRÊMEMENT RÉPANDUE. — Lorsque les papillons sont corpusculeux, les œufs qui en proviennent peuvent être exempts de corpuscules. — Pourquoi des papillons corpusculeux donnent-ils, dans certains cas, des œufs corpusculeux et, dans d'autres, des œufs privés de corpuscules? — Le corpuscule est-il l'indice d'une maladie régnante très-développée? — Identité de la pébrine et de la maladie des corpuscules.

CHAPITRE II. — CARACTÈRE ÉMINEMMENT CONTAGIEUX DE LA PÉBRINE. — Opinions diverses. — Contagion par la nourriture. — Contagion par la peau des vers, à l'aide de piqûres. — Contagion par les poussières fraîches des éducations courantes. — Contagion des vers sains par simple association avec des vers malades. — Infection ou contagion à distance. — La pébrine ne peut, dans aucun cas, détruire l'éducation industrielle d'une graine issue de papillons sains.

CHAPITRE III. — DE LA NATURE DES CORPUSCULES ET DE LEUR MODE DE GÉNÉRATION.

CHAPITRE IV. — LES CORPUSCULES VIEUX ET SECS SONT DES ORGANISMES CADUCS INCAPABLES DE SE REPRODUIRE.

CHAPITRE V. — DES MOYENS DE COMBATTRE LA PÉBRINE ET D'EN PRÉVENIR LE RETOUR. — Méthode de grainage au microscope. — Des moyens de multiplier les chambrées bonnes pour graine. — — Du grainage appelé *cellulaire* — De la préférence à donner à l'examen des papillons relativement à celui des œufs pour se procurer de la graine exempte de pébrine.

LA FLACHERIE.

CHAPITRE I. — LA MALADIE DES VERS A SOIE SE COMPOSE DE DEUX MALADIES DISTINCTES. — Avant l'année 1867, on croyait à une maladie unique pouvant revêtir des formes diverses. — Indépendance de la pébrine et de la flacherie. — La pébrine et la flacherie composent tout le mal.

CHAPITRE II. — NATURE DE LA MALADIE DITE DES « MORTS-FLATS », OU « FLACHERIE. »

CHAPITRE III. — LA FLACHERIE EST TANTÔT HÉRÉDITAIRE, TANTÔT ACCIDENTELLE.

CHAPITRE IV. — CARACTÈRE CONTAGIEUX DE LA FLACHERIE.

CHAPITRE V. — GUÉRISON POSSIBLE DE LA PRÉDISPOSITION HÉRÉDITAIRE A LA FLACHERIE PAR DES CONDITIONS ENCORE INDÉTERMINÉES D'ÉDUCATION.

CHAPITRE VI. — ESTIMATION DE LA PRÉDISPOSITION DE DIVERS LOTS DE GRAINES A LA FLACHERIE PAR LA RAPIDITÉ DE LA CONTAGION DE LA PÉBRINE.

CHAPITRE VII. — RÉGÉNÉRATION D'UNE RACE A L'AIDE D'UNE GRAINE, QUELQUE MAUVAISE QU'ELLE SOIT. — ÉDUCATION CELLULAIRE. — ÉDUCATION A GRANDE SURFACE.

APPENDICE.

CHAPITRE I. — DE L'ANCIENNETÉ DE LA PÉBRINE.

CHAPITRE II. — POURQUOI LE FLÉAU A SUIVI A TRAVERS L'EUROPE ET L'ASIE LES OPÉRATIONS DU COMMERCE DES GRAINES.

CHAPITRE III. — LA RÉCOLTE DES COCONS A TOUJOURS ÉTÉ FORT DÉPENDANTE DES CONDITIONS CLIMATÉRIQUES.

CHAPITRE IV. — DU RENDEMENT MOYEN DES ÉDUCATIONS DE VERS A SOIE AVANT L'ÉPOQUE DE LA MALADIE. — POSSIBILITÉ DE L'ACCROÎTRE.

CHAPITRE V. — DE QUELQUES DIFFÉRENCES ENTRE LA MUSCARDINE, LA PÉBRINE ET LA FLACHERIE.

TOME SECOND.

NOTES ET DOCUMENTS.

Ire PARTIE. — RAPPORTS OFFICIELS ET DISCUSSIONS AU SÉNAT ET AU CORPS LÉGISLATIF RELATIVEMENT A LA MALADIE DES VERS A SOIE.

IIe PARTIE. — RAPPORTS ET PUBLICATIONS DIVERSES CONFIRMANT L'EFFICACITÉ DE MON PROCÉDÉ DE CONFECTION DE LA GRAINE DE VERS A SOIE.

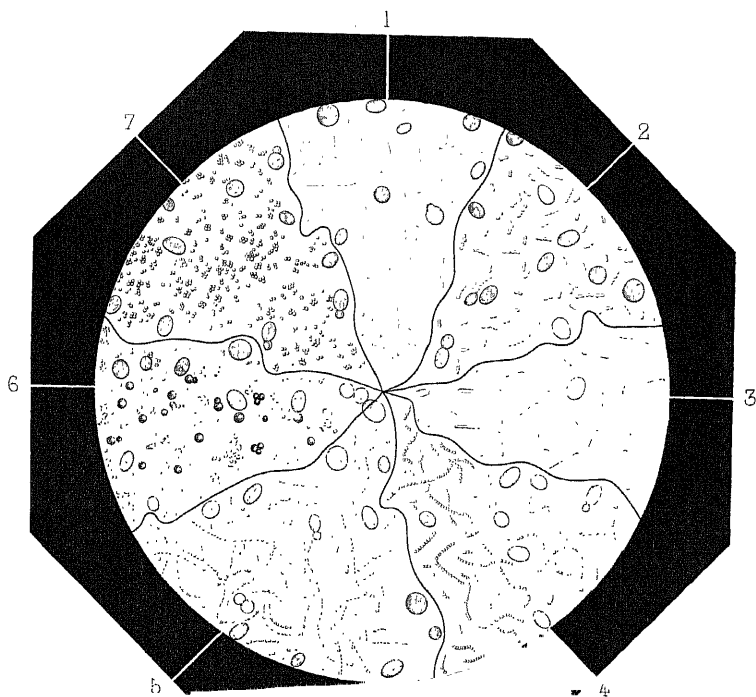
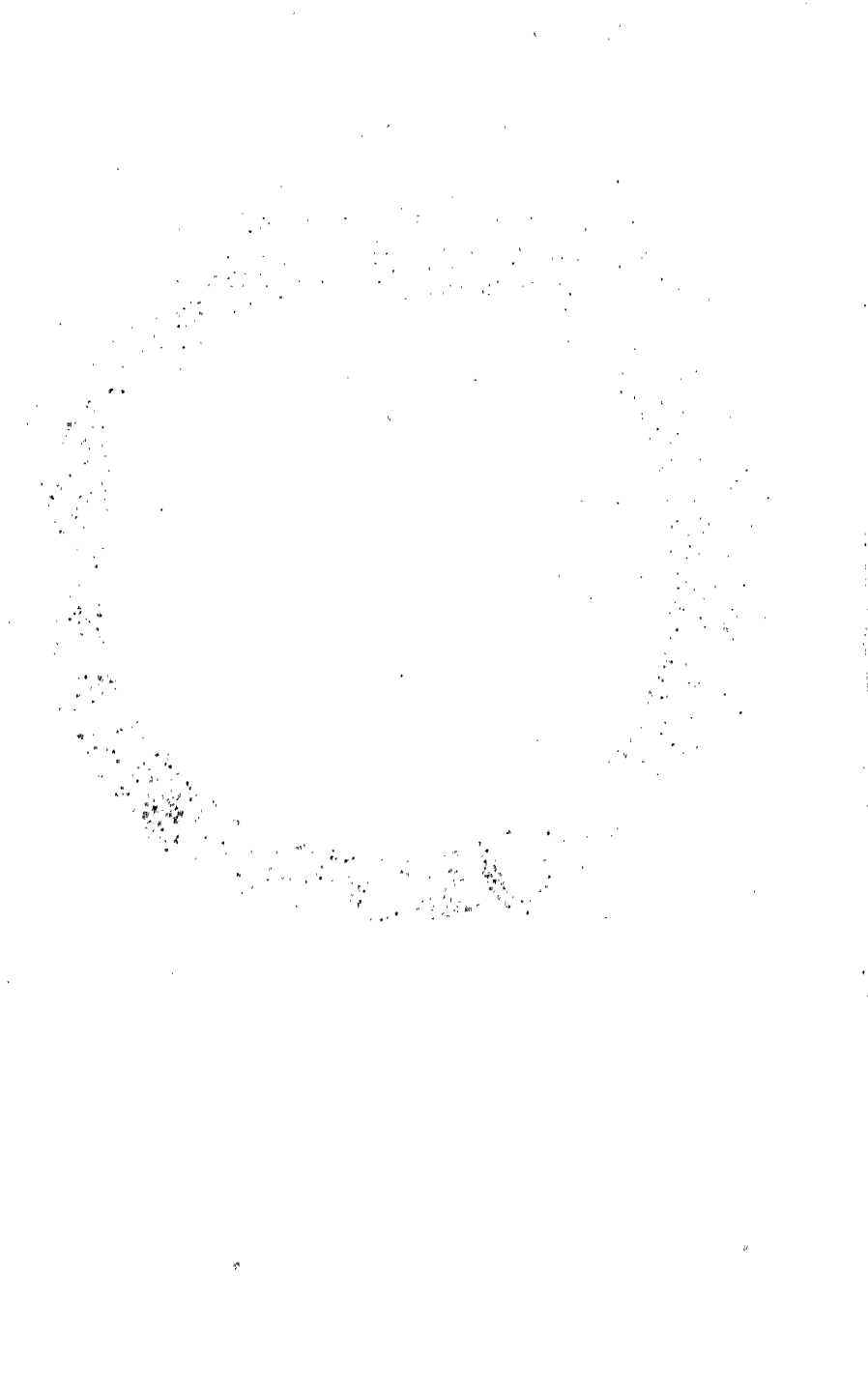
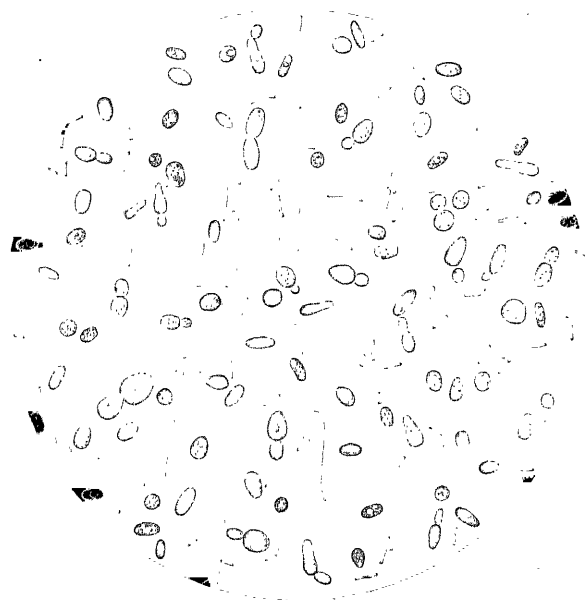
IIIe PARTIE. — MES COMMUNICATIONS A L'ACADÉMIE DES SCIENCES ET A DIVERS RECUEILS. — RAPPORTS AU MINISTRE DE L'AGRICULTURE.

IVe PARTIE. — NOTES DIVERSES.

Paris. — Imprimerie de GAUTHIER-VILLARS, quai des Augustins, 55.

PRINCIPAUX FERMENTS DE MALADIE DU MOÛT ET DE LA BIÈRE

E Helle sc

Imp. ... Paris

Bière tournée _ Aspect au microscope de son dépôt

$\frac{400}{1}$

Deyrolle del   Picart sc

$\frac{400}{1}$

Deyrolle del

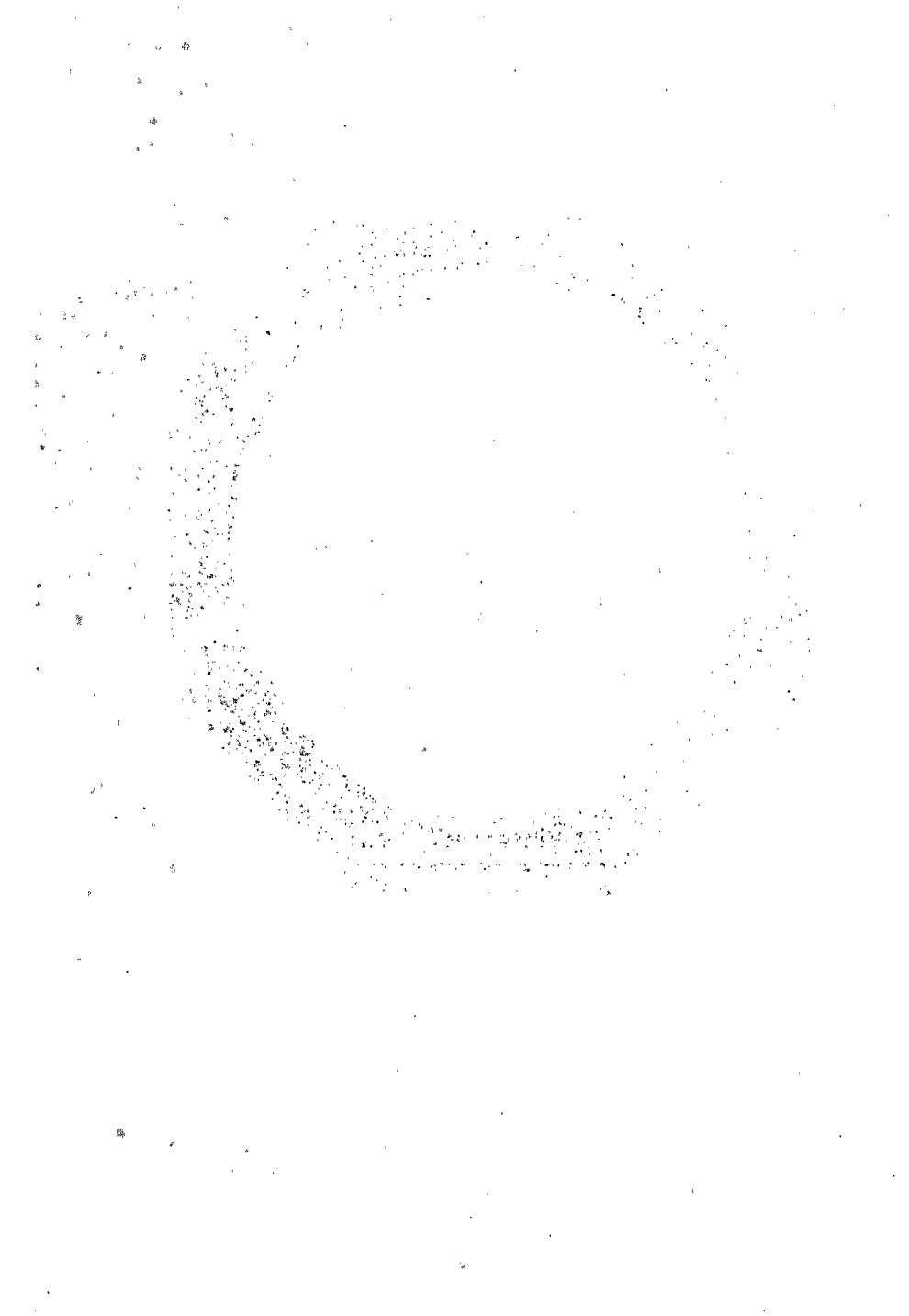
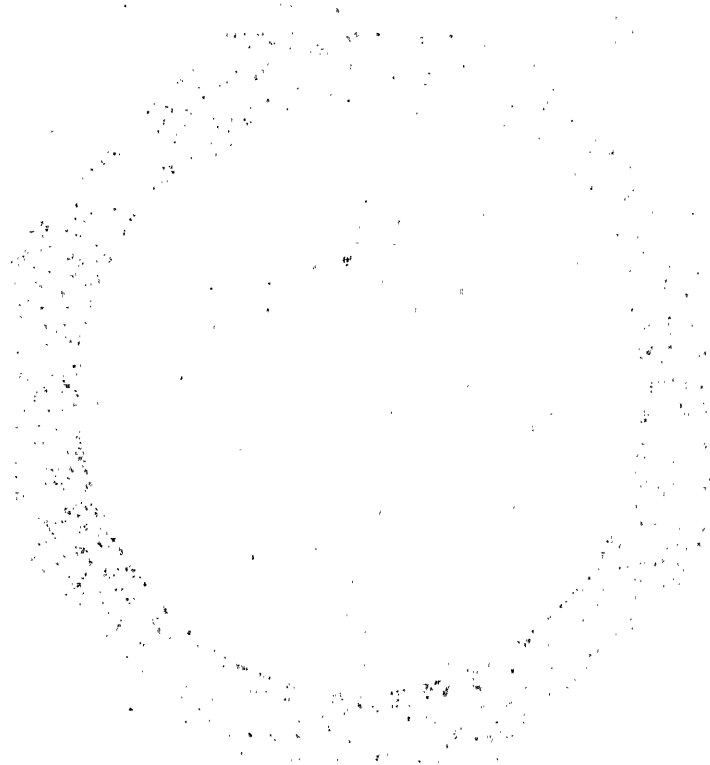
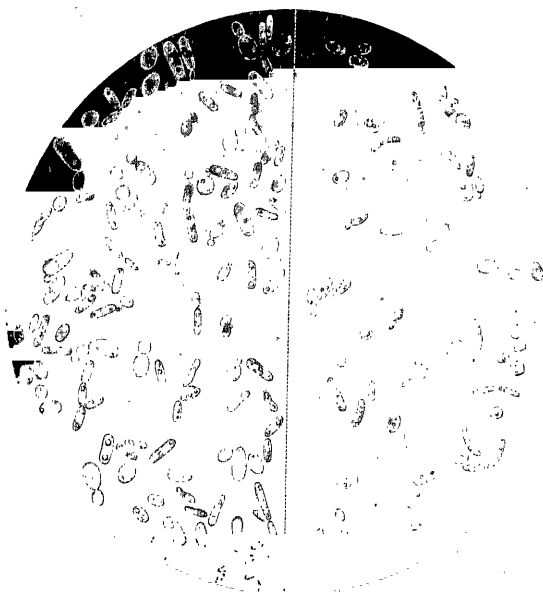
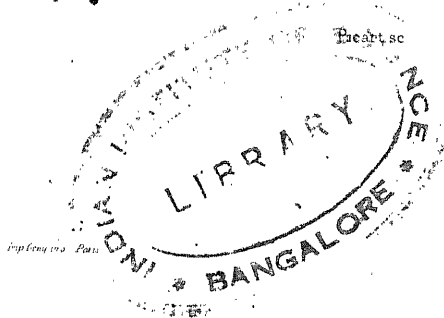
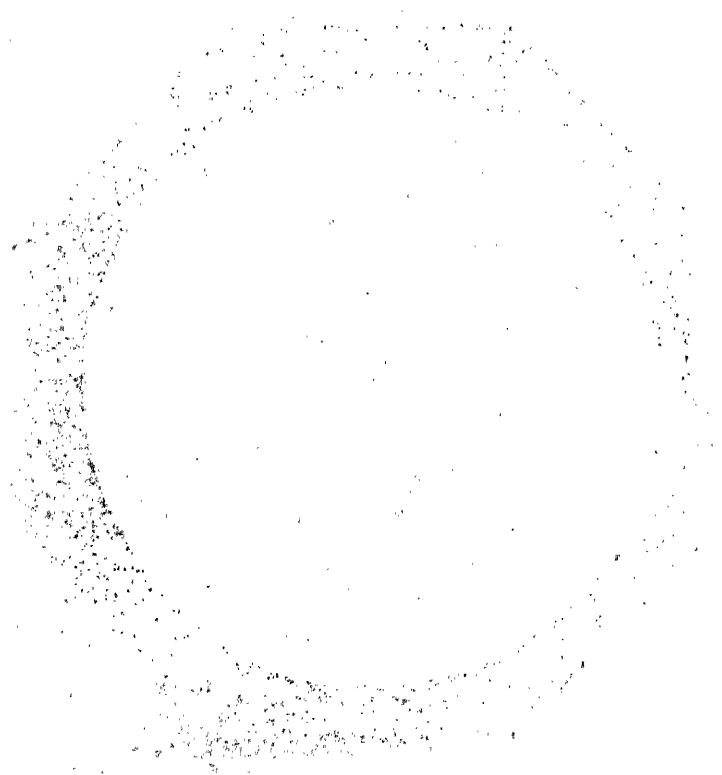
Picart sc

Imp Geny Gros Paris

$\frac{400}{1}$

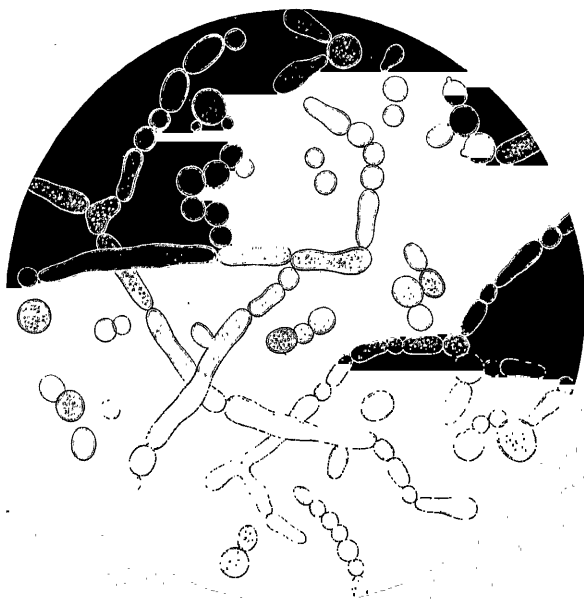
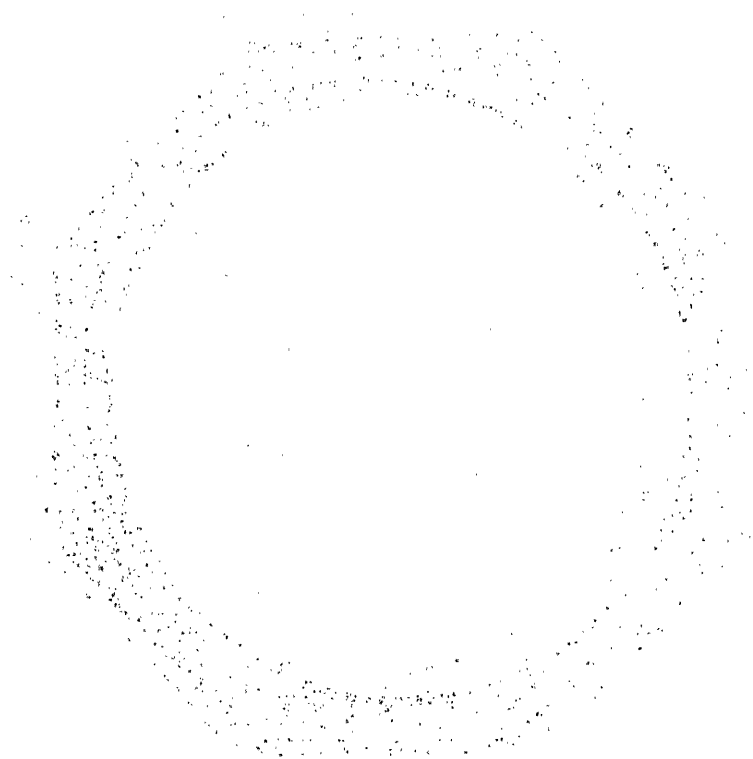
Deyrolle del

Picart sc

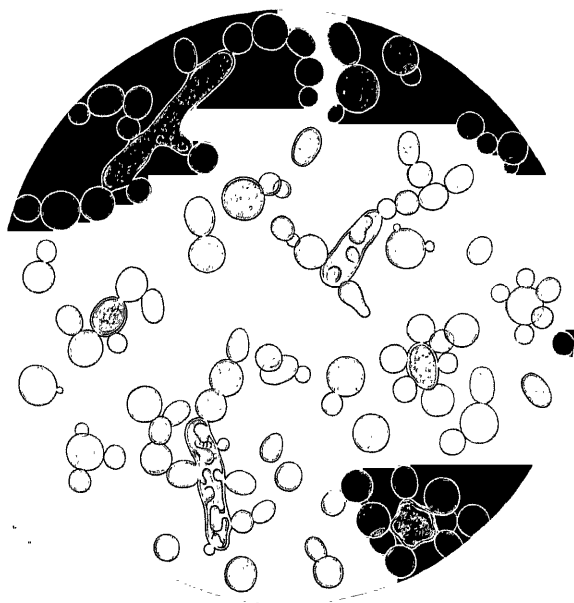
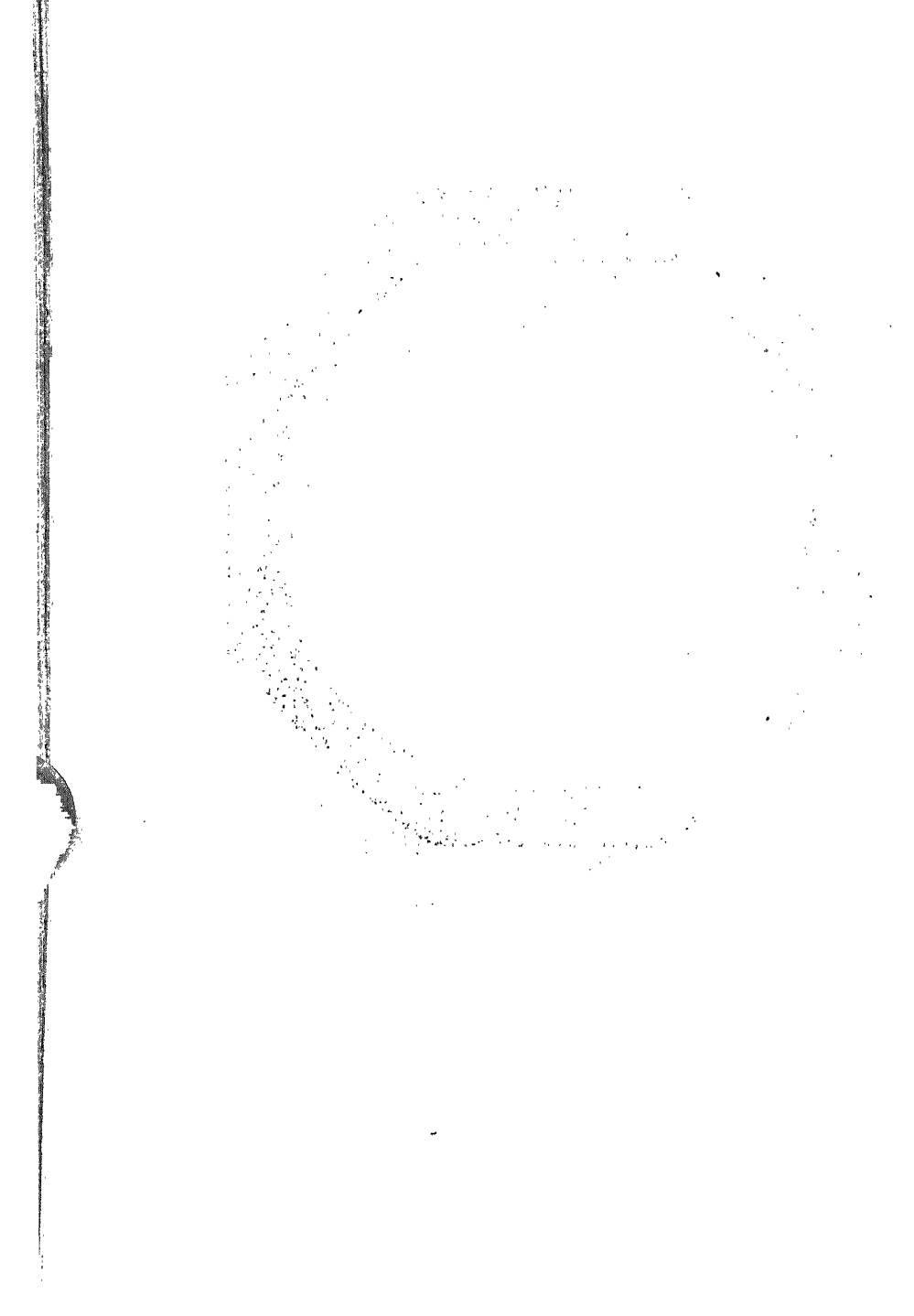
Imp Geny-Gros Paris

Mucor — Végétant submergé avec insuffisance d'air

$\frac{400}{1}$

Lackerbauer del Picart sc

Cie Bouchy Paris

Levûre de Mucor

$\frac{400}{1}$

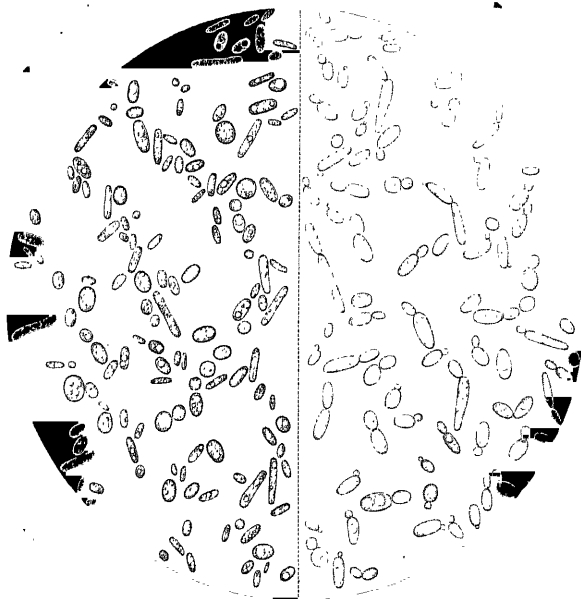
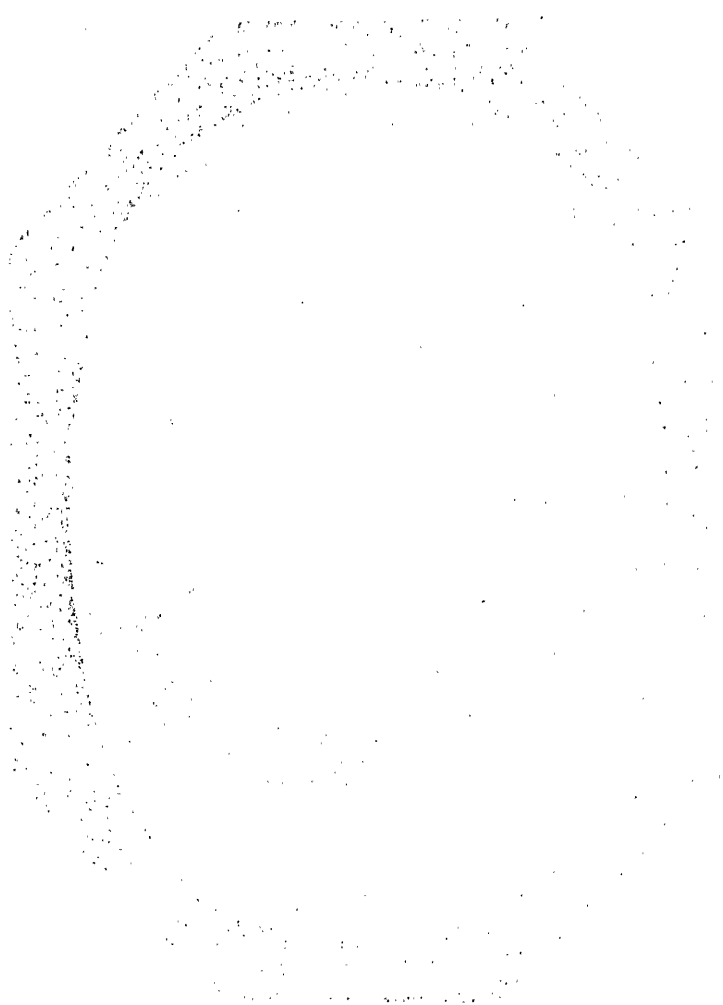
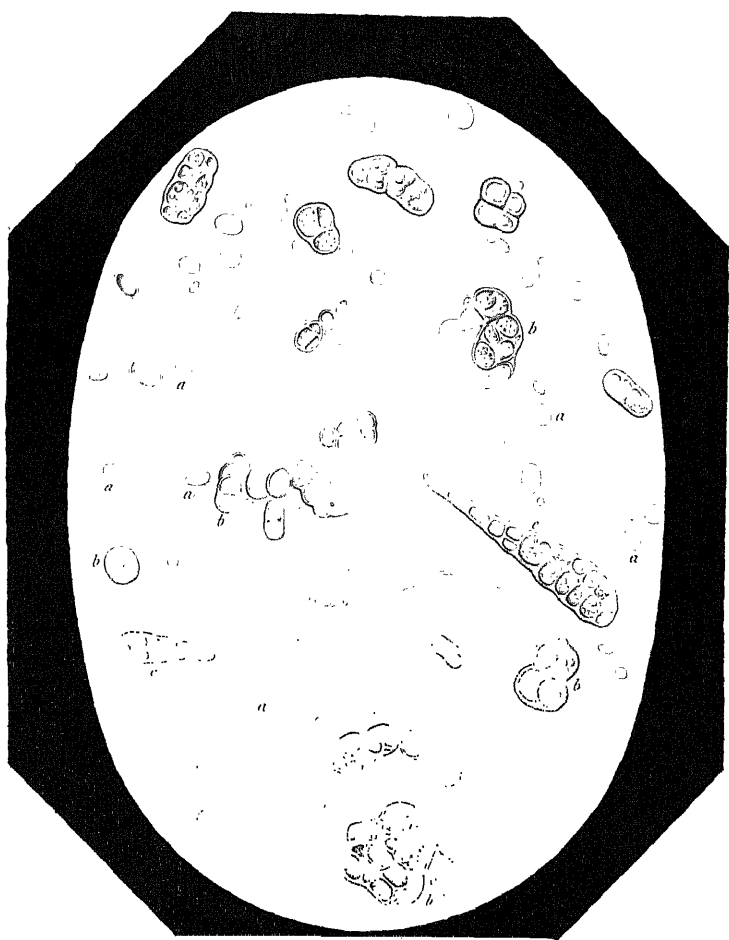
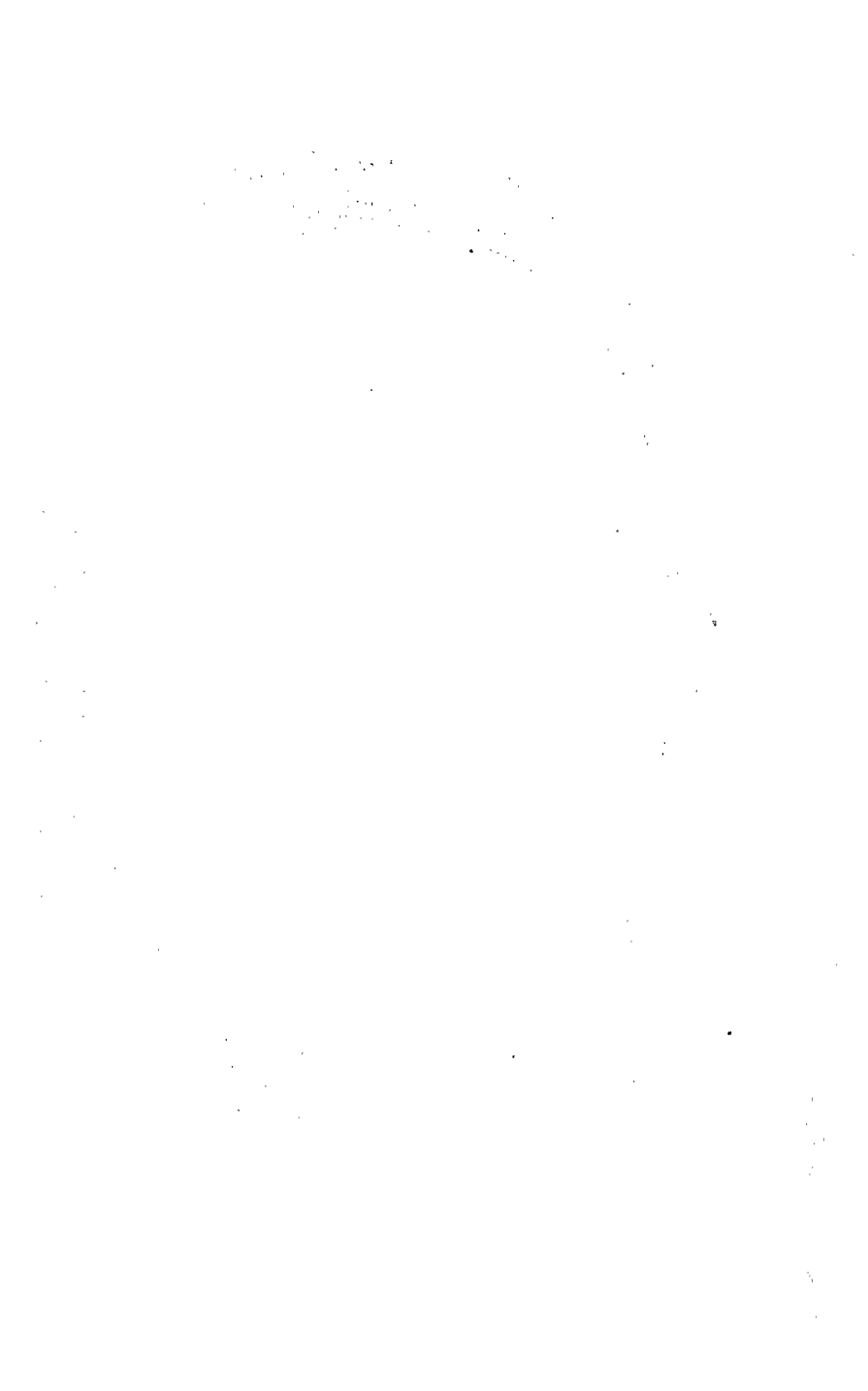
Lackerbauer del

Picart sc

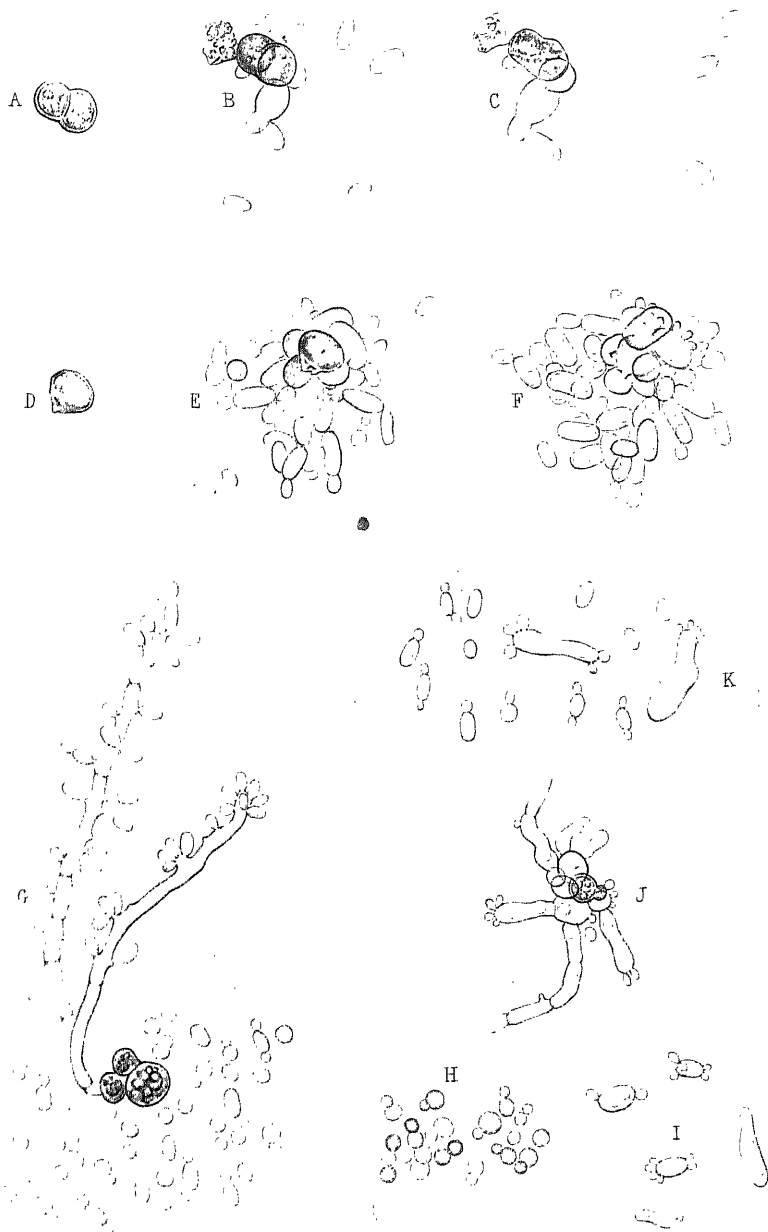
Cellules de levûre vieilles disjointes côté gauche
Leur rajeunissement dans un moût sucré côte droit

400/1

Deyrolle del

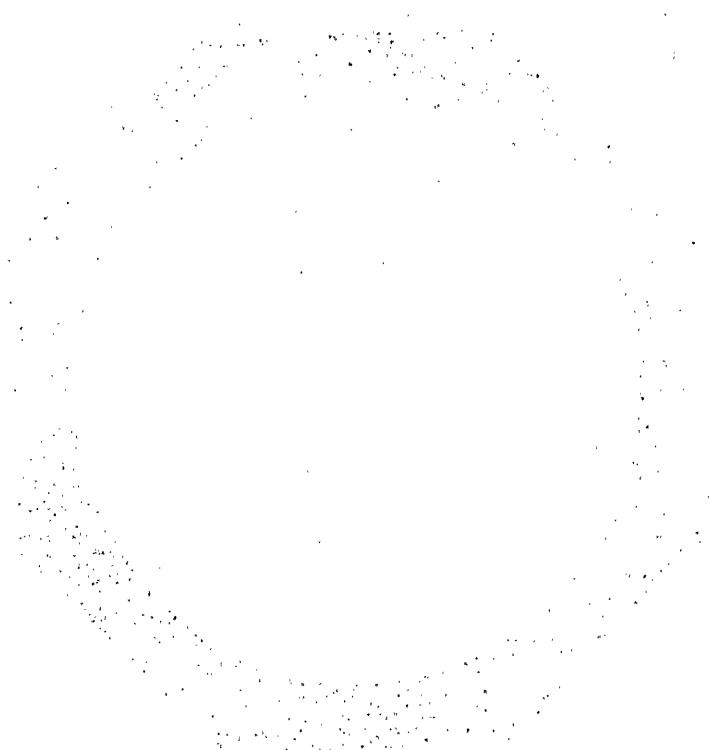
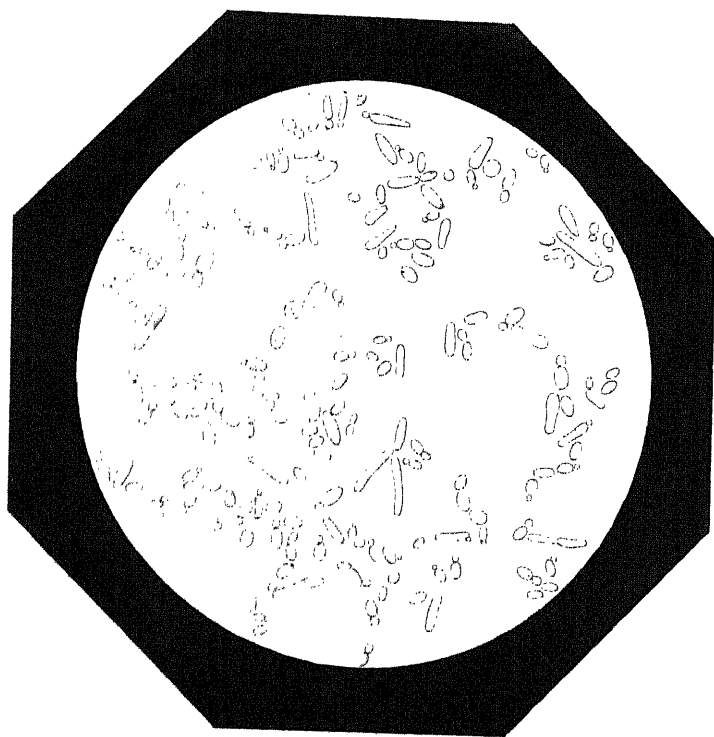
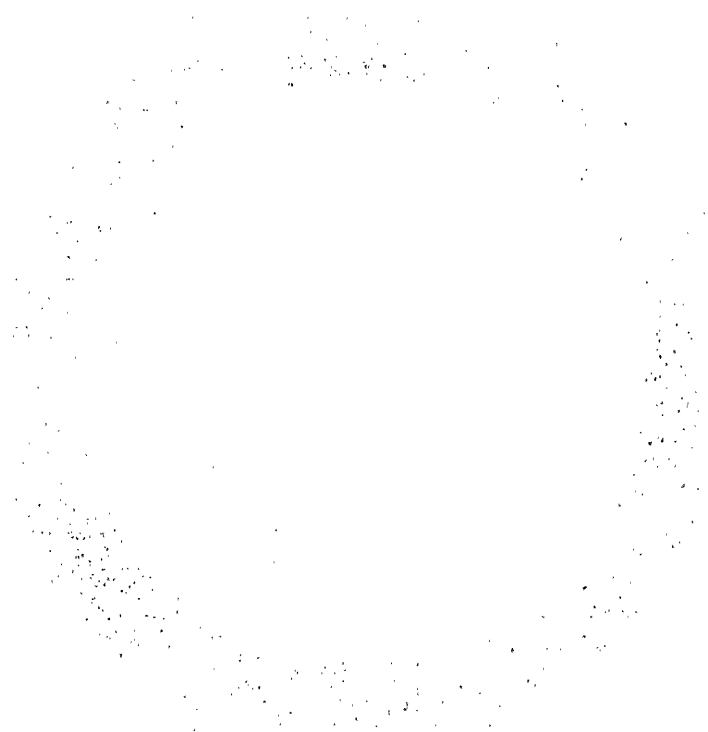
Picart sc

Imp Geny Gros Paris

Cellules germinatives de la poussière de la surface extérieure des grappes de raisin

$\frac{500}{1}$

Picart sc

Exemples de germinations de cellules de la poussière extérieure des grappes de raisin

Une des levûres des fruits acides au début de la fermentation de leurs moûts naturels

$\frac{400}{1}$

Picart sc

Saccharomyces pastorianus en cultures suivies

Levûre d'une fermentation spontanée commençante

400
1

F. Hellé sc.